

SISTEMA IMMUNITARI I MARCADORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN L'EDAT PEDIÀTRICA

Montse Gispert-Saüch i Puigdevall

Per citar o enllaçar aquest document:

Para citar o enlazar este documento:

Use this url to cite or link to this publication:

<http://hdl.handle.net/10803/643594>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



Institut
d'Investigació
Biomèdica
de Girona
Dr. Josep Trueta

TESI DOCTORAL

**Sistema immunitari i marcadors
de risc cardiometabòlic
en l'edat pediàtrica**

Montse Gispert-Saüch i Puigdevall

Gener de 2018



TESI DOCTORAL

SISTEMA IMMUNITARI I MARCADORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN L'EDAT PEDIÀTRICA

Montse Gispert-Saüch i Puigdevall

Gener de 2018

Programa de Doctorat de Ciències experimentals i sostenibilitat

Dirigida per:

Dr. Abel López Bermejo Investigador I3

Dra. Judit Bassols

Institut d'Investigació Biomèdica de Girona

Investigadora Miguel Servet

Metge adjunt de Pediatria Servei de Pediatria

Institut d'Investigació Biomèdica de Girona

Professor Associat Facultat de Medicina

Hospital de Girona i Universitat de Girona

Memòria presentada per optar al títol de doctora per la Universitat de Girona



Dr. Abel López-Bermejo, de l'Institut d'Investigació Biomèdica de Girona,

DECLARO:

Que el treball titulat «Sistema immunitari i marcadors de risc cardiometabòlic en l'edat pediàtrica» que presenta **Montse Gispert-Saüch i Puigdevall** per a l'obtenció del títol de doctora, ha estat realitzat sota la meva direcció i que compleix els requisits per poder optar a aquest títol.

I, perquè així consti i tingui els efectes oportuns, signo aquest document.

Dr. Abel López-Bermejo

Girona, 20 d'octubre de 2017



Dra. Judit Bassols Casadevall, de l'Institut d'Investigació Biomèdica de Girona,

DECLARO:

Que el treball titulat «Sistema immunitari i marcadors de risc cardiometabòlic en l'edat pediàtrica» que presenta **Montse Gispert-Saüch i Puigdevall** per a l'obtenció del títol de doctora, ha estat realitzat sota la meva direcció i que compleix els requisits per poder optar a aquest títol.

I, perquè així consti i tingui els efectes oportuns, signo aquest document.

Dra. Judit Bassols Casadevall

Girona, 20 d'octubre de 2017

DEDICATÒRIA

Als meus pares Salvador i Roser,

als meus fantàstics germans i cunyats

Núria i Martí, Sebi i Mar, Mar i Quim,

al meu company de camí, en Rafel

i als meus petits-grans fills Joan, Eloi, Pau,
Anna i a la petita Maria, que encara està
gestant-se.

“No és a cops de martell
sinó per la dansa de l'aigua,
que esdevenen perfectes els còdols de
la riera”.

R. Tagore

AGRAÏMENTS

Diuen que *“l'agraïment és el do més valuós que hi ha”*, no sé si és veritat, potser n'hi ha d'altres que tenen més vàlua... però tant la meua àvia Victòria com la meua mare Roser m'han ensenyat que l'agraïment forma part de la riquesa intrínseca de la seva bondat.

En primer lloc, m'agradaria agrair a la Dra. Judit Bassols i al Dr. Abel López-Bermejo la seva inestimable ajuda, la seva paciència i la seva confiança ja des del moment zero, abans i tot de que jo mateixa estigués segura d'acabar la tesi.

També voldria agrair al Dr. Mayol i als meus companys de treball que m'hagin permès poder dedicar-hi hores, sense les quals, aquesta tesi encara estaria covant-se.

Gràcies a vosaltres (les amigues, les mames) pel vostre recolzament emocional.

I finalment, m'agradaria agrair molt especialment el suport incondicional i emocional de la meua família,

sense tu mare,
sense tu Rafel,
sense tu Sebi,
sense vosaltres Núria i cunyats,
això no hagués estat possible.

A tots gràcies!!!

Taula d'abreviatures

ALT	Alanina transaminasa
ANCA	Autoanticossos anticitoplasmàtics
APCs	Cèl·lules presentadores d'antígens
APM	Alt pes molecular
AST	Aspartat transaminasa
BGN	Bacils gram negatiu
BGP	Bacils gram positiu
BPI	Bactericidal/permeability-increasing protein
BPM	Baix pes molecular
CPA	Cèl·lula presentadora d'antigen
CT	Colesterol total
DEFA	α -defensines
DM	Diabetis mellitus
dsARN	ARN de doble cadena
EEM	Error estàndard de la mitjana
FASN	Sintassa dels àcids grassos
GGT	Gammaglutamil transferasa
GIMc	Gruix de la íntima-mèdia carotídia
HDL	Lipoproteïnes d'alta densitat
HLA	Antigen leucocitari humà
HNP	Human neutrophil peptides
HOMA-IR	Estimació de la resistència a la insulina
HTA	Hipertensió arterial
IDF	International Diabetes Federation
Ig	Immunoglobulina / Anticòs
IL	Interleucina
IMC	Índex de massa corporal
INF-g	Interferó-gamma
IRS	Insulin receptor substrate
LDL	Lipoproteïnes de baixa densitat
LGLs	Limfòcits granulars grans

LPS	Lipopolisacàrid
MF	Macròfags
MHC	Complex principal d'histocompatibilitat
NK	Cèl·lules Natural Killer
NT	Neutròfils
OMS	Organització Mundial de la Salut
PA	Perímetre abdominal
PAMPs	Patrons associats a molècules de patògens
PCRus	Proteïna C-Reactiva ultrasensible
PMM	Pes molecular mitjà
PMN	Cèl·lules polimorfonuclears
SDS	Standard deviation score (z-score)
SOG	Sobrecàrrega oral de glucosa
ssARN	ARN de cadena simple
T reg	Cèl·lules T reguladores
TA	Pressió arterial
TAD	Pressió arterial diastòlica
TAS	Pressió arterial sistòlica
TCR	Receptor de les cèl·lules T
TG	Triglicèrids
Th	Cèl·lules T helper
TLR	Receptors tipus Toll (Toll-like receptor)
TMB	Tetrametilbencidina
TNF-alfa	Factor de necrosis tumoral alfa
VLDL	Lipoproteïnes de molt baixa densitat

ÍNDEX

ÍNDEX GENERAL

ÍNDEX GENERAL	9
ÍNDEX DE TAULES.....	13
ÍNDEX DE FIGURES.....	15
RESUM	17
RESUMEN	19
SUMMARY	21
1 INTRODUCCIÓ.....	25
1.1 Risc cardiovascular i obesitat infantil.....	25
1.1.1 Obesitat.....	26
1.1.1.1 Índex de massa corporal: IMC	26
1.1.1.2 Perímetre abdominal	27
1.1.1.3 El teixit adipós	27
1.1.1.3.1 Característiques del teixit adipós.....	28
1.1.1.3.2 El teixit adipós com a òrgan endocrí.....	30
1.1.1.3.3 L'Adiponectina	31
1.1.1.3.4 Estructura de l'Adiponectina.....	32
1.1.1.3.5 Adiponectina d'alt pes molecular	33
1.1.2 Hipercolesterolèmia.....	34
1.1.3 Hipertensió.....	35
1.1.4 Resistència a la insulina	36
1.1.4.1 L'Índex HOMA-IR:	38
1.1.5 Malaltia coronària	38
1.1.5.1 PCR ultrasensible (PCRus)	39
1.1.5.2 Gruix de la íntima-mèdia carotídia (GIMc)	39
1.1.6 Síndrome metabòlica.....	41
1.2 Sistema Immunitari	45
1.2.1 Immunitat innata.....	45
1.2.1.1 α -defensines.....	48
1.2.1.1.1 Característiques generals de les α -defensines	49
1.2.1.1.2 Classificació i estructura de les α -defensines	49
1.2.1.1.3 Estructura genòmica de les α -defensines.....	50
1.2.1.1.4 Fonts cel·lulars i estructura dels teixits.....	51
1.2.1.1.5 Molècules efectores i reguladores de la immunitat	52

1.2.1.1.6	Relació de les α -defensines amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular	54
1.2.1.2	Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI)	56
1.2.1.2.1	Característiques generals de la BPI	56
1.2.1.2.2	Estructura genòmica de la BPI	56
1.2.1.2.3	Fonts cel·lulars i distribució en els teixits	57
1.2.1.2.4	Molècules efectores i reguladores de la immunitat	57
1.2.1.2.5	Relació de la BPI amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular	59
1.2.2	Immunitat adquirida	61
1.2.2.1	Cèl·lules T i APC	61
1.2.2.2	Cèl·lules B	64
1.2.2.3	Immunitat humoral i immunitat cel·lular	64
1.2.2.4	Immunoglobulines:	65
1.2.2.4.1	Estructura general de les immunoglobulines	67
1.2.2.4.2	Immunoglobulina G	68
1.2.2.4.3	Immunoglobulina A	69
1.2.2.4.4	Immunoglobulina M	70
1.2.2.5	Relació de les immunoglobulines amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular	71
2	HIPÒTESI	75
2.1	Hipòtesi	75
3	OBJECTIUS	79
4	MATERIAL I MÈTODES	83
4.1	Disseny	83
4.2	Consideracions ètiques	83
4.3	Subjectes d'estudi	83
4.4	Criteris d'inclusió i exclusió dels nens/es	85
4.4.1	Criteris d'inclusió:	85
4.4.1.1	Criteris d'inclusió de la visita inicial	85
4.4.1.2	Criteris d'inclusió de la visita de seguiment	85
4.4.2	Criteris d'exclusió per ambdós estudis:	85
4.5	Variables	86
4.5.1	Variables clíniques	86
4.5.2	Variables analítiques	87
4.5.2.1	Elaboració d'una seroteca i d'una plasmoteca	87
4.5.2.2	Analítica general	87

4.5.3	Variables específiques	89
4.5.3.1	Defensines	89
4.5.3.1.1	Protocol.....	89
4.5.3.2	Bacterial/permeability-increasing protein (BPI)	90
4.5.3.2.1	Protocol.....	90
4.5.3.3	Immunoglobulines IgG, IgA i IgM.....	91
4.5.3.3.1	Protocol.....	91
4.6	Recollida i anàlisi de dades.....	92
5	RESULTATS.....	95
5.1	Sistema immunitari innat, obesitat i factors de risc cardiometabòlic.....	95
5.1.1	Població d'estudi	95
5.1.2	α -defensines	99
5.1.2.1	Estudi transversal	99
5.1.2.2	Estudi longitudinal	101
5.1.3	Bacterial/permeability-increasing protein-BPI	103
5.1.3.1	Estudi transversal	103
5.1.3.2	Estudi longitudinal	105
5.2	Immunitat adquirida, obesitat i factors de risc cardiometabòlics	106
5.2.1	Població d'estudi	106
5.2.2	IgG.....	109
5.2.3	IgA	111
5.2.4	IgM.....	114
6	DISCUSSIÓ	119
6.1	Immunitat innata, Obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals	119
6.1.1	Associació entre els nivells circulants de les α -defensines amb obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.	119
6.1.2	Associació entre els nivells circulants de BPI amb obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.....	125
6.2	Associació entre els nivells circulants d'immunoglobulines (IgG, IgM i IgA) amb obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.....	129
6.3	Discussió conjunta dels resultats	136
7.	Conclusions	141
7	BIBLIOGRAFIA.....	145

ÍNDEX DE TAULES

Taula 1. Definicions de la síndrome metabòlica segons la National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III), l'Organització Mundial de la Salut (OMS), l'American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) i la International Diabetes Federation (IDF). Lizarzaburu J.C. An. Fac. Med. 2013;74(4):315-320.	43
Taula 2. Criteris diagnòstics de la síndrome metabòlica en adolescents. Definicions segons la International Diabetes Federation 2007 (IDF). Güeme-Hidalgo M., Muñoz-Calvo M.I. Pediatría Integral 2015; XIX (6):428-435.	44
Taula 3. Resum dels mecanismes de defensa de l'hoste no específics.	48
Taula 4. Principals tipus i característiques de les immunoglobulines. Adaptat per l'autora.	66
Taula 5. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de l'Alt Empordà en l'estudi transversal (basal) i l'estudi longitudinal (seguiment al cap de 3 anys).	96
Taula 6. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de l'Alt Empordà en l'estudi transversal (basal) classificats segons IMC en prims (IMC-SDS<1) i no prims (IMC-SDS≥1).	97
Taula 7. Correlació entre α -defensines basals (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics basals (~7 anys).	99
Taula 8. Anàlisi de regressió múltiple de les α -defensines basals (~7 anys) com a variable dependent.	100
Taula 9. Correlació entre α -defensines basals (~7anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics al seguiment (~10 anys).	101
Taula 10. Anàlisi de regressió múltiple amb l'IMC al seguiment (~10 anys) i el perímetre abdominal al seguiment (~10 anys) com a variables dependents.	103
Taula 11. Correlació entre BPI basal (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics basals (~7 anys).	104
Taula 12. Anàlisi de regressió múltiple amb BPI basal (~7 anys) com a variable dependent.	104
Taula 13. Correlació entre BPI basal (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics en l'estudi seguiment (~10 anys).	105
Taula 14. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de Girona (immunoglobulines).	107
Taula 15. Correlació entre IgG i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes: IMC-SDS<1 i IMC- SDS≥1.	109
Taula 16. Correlació entre IgG i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes: IMC-SDS<2 i IMC-SDS≥2.	109
Taula 17. Anàlisi de regressió múltiple de les IgG com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.	110
Taula 18. Correlació entre IgA i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes IMC-SDS<1 i IMC-SDS≥1.	112
Taula 19. Correlació entre IgA i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes IMC-SDS<2 i IMC-SDS≥2.	112

Taula 20. Anàlisi de regressió múltiple de les IgA com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.	113
Taula 21. Correlació entre IgM i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes: IMC-SDS<1 i IMC-SDS≥1.....	114
Taula 22. Correlació entre IgM i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes IMC-SDS<2 i IMC-SDS≥2.....	114
Taula 23. Anàlisi de regressió múltiple de les IgM com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.....	115

ÍNDIX DE FIGURES

Figura 1. Conseqüències de l'augment de teixit adipós en pacients obesos.....	29
Figura 2. Quadre resum dels factors inflamatoris i antiinflamatoris secretats pel teixit adipós.....	30
Figura 3. Factors secretats pel teixit adipós implicats en la homeòstasi energètica, la sensibilitat a la insulina i la homeòstasi vascular.....	31
Figura 4. Factors o estats patològics que afecten els nivells d'adiponectina.....	32
Figura 5. Estructura de l'adiponectina on s'observen els quatre dominis i el nombre d'aminoàcids que componen aquests dominis.....	33
Figura 6. Diferents formes moleculars de l'adiponectina. Giannessi D et al. Adiponectin circulating levels: a new emerging biomarker of cardiovascular risk. Pharmacological Research 2007; 56(6):459-67.....	33
Figura 7. Principals teixits implicats en el metabolisme glucolipídic regulat per la insulina, amb implicacions en l'etiopatogènia de la resistència a la insulina.....	36
Figura 8. Representació esquemàtica de les principals accions de la insulina.....	37
Figura 9. Mesura del gruix de la íntima-mèdia carotídia (GIMc).....	40
Figura 10. Factors associats al desenvolupament de la síndrome metabòlica.....	41
Figura 11. Característiques i funció de les cèl·lules involucrades en la immunitat innata.....	47
Figura 12. Estructura terciària representativa de les α i β -defensines. Font: Rodríguez M. Tesis: "Defensinas: moléculas de la inmunidad innata con actividad frente a la infección por VIH y su progresión a SIDA". UAB 2006.....	49
Figura 13. Esquema de les α -defensines 1, 2 i 3.....	50
Figura 14. Localització, transcripció i traducció de les defensines.....	51
Figura 15. Imatge de l'estructura de la BPI.....	57
Figura 16. Relació de BPI i LPS.....	58
Figura 17. Immunitat adquirida. Activació i funció de cèl·lules T i B.....	62
Figura 18. Estructura d'una immunoglobulina típica.....	67
Figura 19. Estructura IgG.....	68
Figura 20. Estructura immunoglobulina A (IgA).....	69
Figura 21. Estructura immunoglobulina M (IgM).....	70
Figura 22. Gràfic de barres dels nivells de α -defensines i BPI en l'estudi transversal (basal).....	98
Figura 23. Correlació gràfica entre les α -defensines basals (~7 anys) amb el perímetre abdominal (~7 anys).....	100
Figura 24. Correlació gràfica entre les α -defensines basals (~7 anys) amb l'índex de massa corporal al seguiment (IMC-SDS ~10 anys) i el perímetre abdominal al seguiment (~10 anys).....	102
Figura 25. Gràfic de barres dels nivells d'IgG, IgA i IgM classificats segons l'IMC en prims (IMC-SDS<1), sobrepès (1≤IMC-SDS<2) i obesitat (IMC-SDS≥2).....	108

Figura 26. Correlació gràfica entre les IgG plasmàtiques i els factors de risc metabòlics en el grup dels pacients no prims en funció del seu pes.....	111
Figura 27. Correlació gràfica entre les IgA plasmàtiques i els factors de risc metabòlics en el grup dels pacients no prims en funció del seu pes.....	113
Figura 28. Esquema proposat entre els nivells circulants de les α -defensines amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en nens prepuberals.....	120
Figura 29. Proposta dels diferents mecanismes d'afectació de l'homeòstasi vascular per part de les defensines.	124
Figura 31. Actuació de la BPI a nivell de les membranes de les bacteries gram negatives.....	125
Figura 31. Associació entre els nivells circulants de BPI amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en l'estudi transversal de nens prepuberals.	127
Figura 32. Associació entre els nivells circulants d'immunoglobulines amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en nens prepuberals.	133

RESUM

La prevalença de l'obesitat infantil s'ha triplicat en els últims anys. L'obesitat (especialment l'obesitat abdominal) és un factor de risc de malaltia metabòlica i cardiovascular (dislipèmia, alteració hidrocarbonada, hipertensió arterial, malaltia arterioscleròtica i resistència a la insulina).

El sistema immunitari està format per una col·lecció de cèl·lules i proteïnes que tenen com a funció protegir l'organisme de la invasió d'antígens estranys. L'activació crònica del sistema immunitari està relacionada amb l'obesitat i la resistència a la insulina. Entre les molècules del sistema immunitari innat, les α -defensines (DEFA1-3), pèptids pro-inflamatoris, i la proteïna bactericida incrementadora de la permeabilitat (BPI), pèptid antiinflamatori, són antibiòtics naturals produïts per neutròfils que s'han relacionat amb l'obesitat, diabetis tipus 2 i risc cardiovascular en adults. Per altra banda, estudis en ratolins suggereixen que els limfòcits B, cèl·lules de la immunitat adquirida, promouen la resistència a la insulina en acumular-se en el teixit adipós i produir anticossos (Ig) patògens.

En el nostre treball, hipotitzem que les molècules del sistema immunitari podrien ser nous determinants del desenvolupament de l'obesitat abdominal i associar-se amb coneguts paràmetres de risc cardiometabòlic, tals com lípids, resistència a la insulina, composició corporal, i tensió arterial, en l'edat pediàtrica. Amb aquest objectiu, es va estudiar la relació entre els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari innat: α -defensines i BPI i del sistema immunitari adquirit: IgG, IgA i IgM amb l'obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.

Per a l'estudi de les molècules del sistema immunitari innat, es va utilitzar una cohort pediàtrica procedent de Centres de Salut de l'Alt Empordà que es va incloure entre els anys 2010-2013 a l'Hospital de Figueres i de la qual es va fer un seguiment posterior tres anys més tard (estudi descriptiu transversal i longitudinal). En total, es van estudiar 250 nens caucàsics d'edat escolar (126 nens i 124 nenes, amb una edat mitjana de 7.7 ± 0.2 anys; 26.4% amb sobrepès i 22.4% amb obesitat i un seguiment als 10.8 ± 0.2 anys).

Per a l'estudi de les molècules del sistema immunitari adquirit, es va utilitzar una cohort pediàtrica procedent de Centres de Salut de Girona que es va incloure entre els anys 2012-2014 a l'hospital Dr. Josep Trueta de Girona (estudi descriptiu transversal). En total, es van estudiar 270 nens caucàsics d'edat escolar (147 nens i 123 nenes, amb una edat mitjana de 8.4 ± 0.1 anys; 24.1% amb sobrepès i 22.2% amb obesitat).

Els resultats de l'estudi van demostrar que els nens amb sobrepès i obesitat presentaven valors més alts de les α -defensines i més baixos de BPI que els nens primis. Les α -defensines s'associaven a un perfil metabòlic desfavorable als 7 anys i eren predictores de l'IMC i del perímetre abdominal als 7 i als 10 anys de vida.

Contràriament, les concentracions plasmàtiques de BPI s'associaven a un perfil metabòlic més favorable i eren predictores del perímetre abdominal als 7 anys de vida.

Pel que fa referència a la immunitat adquirida, els nens amb sobrepès i obesitat mostraven valors més elevats d'immunoglobulines IgG i IgA que els nens primis, mentre que els nivells en sèrum d'immunoglobulina IgM van ser similars en tots els grups d'estudi. Els nivells de IgG i IgA, s'associaven amb un fenotip metabòlic menys favorable, sobretot en nens obesos, i eren predictors independents de l'HOMA-IR i dels TG als 7 anys de vida.

Els nostres resultats suggereixen un paper addicional de la immunitat innata i adquirida en la regulació de la resistència a la insulina i l'obesitat en edat pediàtrica. La detecció precoç de concentracions disminuïdes de BPI i augmentades de les α -defensines i d'immunoglobulines (IgG i IgA) pot contribuir a predir l'increment de pes, especialment de tipus abdominal, i l'aparició de resistència a la insulina en nens prepuberals i, per tant, ajudar a evitar el desenvolupament d'obesitat infantil.

RESUMEN

La prevalencia de la obesidad infantil se ha triplicado en los últimos años. La obesidad (especialmente la obesidad abdominal) es un factor de riesgo de enfermedad metabólica y cardiovascular (dislipemia, alteración hidrocarbonada, hipertensión arterial, enfermedad arteriosclerótica y resistencia a la insulina).

El sistema inmunitario está formado por una colección de células y proteínas que tienen como función proteger el organismo de la invasión de antígenos extraños. La activación crónica del sistema inmunitario está relacionada con la obesidad y la resistencia a la insulina. Entre las moléculas del sistema inmunitario innato, las α -defensinas (DEFA1-3), péptidos pro-inflamatorios, y la proteína bactericida incrementadora de la permeabilidad (BPI), péptido antiinflamatorio, son antibióticos naturales producidos por neutrófilos que se han relacionado con la obesidad, la diabetes tipo 2 y el riesgo cardiovascular en adultos. Por otro lado, estudios recientes en ratones sugieren que los linfocitos B, células de la inmunidad adquirida, promueven la resistencia a la insulina al acumularse en el tejido adiposo y producir anticuerpos (Ig) patógenos.

En nuestro trabajo, hipotetizamos que las moléculas del sistema inmunitario podían ser nuevos determinantes del desarrollo de la obesidad abdominal y asociarse con conocidos parámetros de riesgo cardiometabólicos, tales como lípidos, resistencia a la insulina, composición corporal, y tensión arterial, en la edad pediátrica. Con este objetivo, se ha estudiado la relación entre los niveles circulantes de las moléculas del sistema inmunitario innato: α -defensinas y BPI y del sistema inmunitario adquirido: IgG, IgA e IgM con la obesidad y factores de riesgo cardiometabólico en niños prepuberales.

Para el estudio de las moléculas del sistema inmunitario innato, se ha utilizado una cohorte pediátrica procedente de Centros de Salud del Alt Empordà que se incluyó entre los años 2010-2013 en el Hospital de Figueres y en la cual se realizó un seguimiento tres años más tarde (estudio descriptivo transversal y longitudinal). En total, se han estudiado 250 niños caucásicos en edad escolar (126 niños y 124 niñas, con una edad media de 7.7 ± 0.2 años; 26.4% con sobrepeso y 22.4% con obesidad y seguimiento a los 10.8 ± 0.2 años).

Para el estudio de las moléculas del sistema inmunitario adquirido, se ha utilizado una cohorte pediátrica procedente de Centros de Salud de Girona que se incluyó entre los años 2012-2014 en el hospital Dr. Josep Trueta de Girona (estudio descriptivo transversal). En total, se han estudiado 270 niños caucásicos en edad escolar (147 niños y 123 niñas, con una edad media de 8.4 ± 0.1 años; 24.1% con sobrepeso y 22.2% con obesidad).

Los resultados del estudio demostraron que los niños con sobrepeso y obesidad presentaban valores más altos de α -defensinas y más bajos de BPI que los niños delgados. Las α -defensinas se asociaban a un perfil metabólico desfavorable a los 7 años y eran predictoras del IMC y del perímetro abdominal a los 7 y a los 10 años de vida. Contrariamente, las concentraciones plasmáticas de BPI se asociaban a un perfil metabólico más favorable y eran predictoras del perímetro abdominal a los 7 años de vida.

En cuanto a la inmunidad adquirida, los niños con sobrepeso y obesidad mostraban valores más elevados de inmunoglobulinas IgG e IgA que los niños delgados, mientras que los niveles en suero de inmunoglobulina IgM fueron similares en todos los grupos de estudio. Los niveles de IgG e IgA, se asociaban con un fenotipo metabólico menos favorable, sobre todo en niños obesos y eran predictores independientes de HOMA-IR y TG los 7 años de vida.

Nuestros resultados sugieren un papel adicional de la inmunidad innata y adquirida en la regulación de la resistencia a la insulina y la obesidad en edad pediátrica. La detección precoz de concentraciones disminuidas de BPI y aumentadas de α -defensinas y de inmunoglobulinas (Ig G y IgA) puede contribuir a predecir el incremento de peso, especialmente de tipo abdominal, y la aparición de resistencia a la insulina en niños prepuberales y, por tanto, ayudar a evitar el desarrollo de obesidad infantil.

SUMMARY

The prevalence of childhood obesity has tripled in recent years. Obesity (especially abdominal obesity) is a risk factor for metabolic and cardiovascular disease (dyslipidemia, glucose intolerance, arterial hypertension, atherosclerotic disease and insulin resistance).

The immune system consists of a collection of cells and proteins whose function is to protect the body from the invasion of foreign antigens. Chronic activation of the immune system is related to obesity and insulin resistance. Among the molecules of the innate immune system, α -defensins (DEFA1-3), pro-inflammatory peptides, and bactericidal permeability-increasing protein (BPI), an anti-inflammatory peptide, are natural antibiotics produced by neutrophils that have been linked to obesity, type 2 diabetes and cardiovascular risk in adults. On the other hand, recent studies in mice suggest that B lymphocytes, cells of acquired immunity, promote insulin resistance by accumulating in adipose tissue and producing pathogenic antibodies (Ig).

In our work, we have hypothesized that the molecules of the immune system may be new determinants of the development of abdominal obesity and may be associated with known cardiometabolic risk parameters, such as lipids, insulin resistance, body composition, and blood pressure, in the pediatric age. To this end, we studied the relationship between the circulating levels of the molecules of the innate immune system: α -defensins and BPI and of the acquired immune system: IgG, IgA and IgM with obesity and cardiometabolic risk factors in prepubertal children.

For the study of the innate immune system molecules, we used a pediatric cohort from Alt Empordà Health Centers that was recruited between 2010-2013 in the Figueres Hospital and was followed-up three years later (descriptive cross-sectional and longitudinal studies). In total, we studied 250 Caucasian school-age children (126 children and 124 girls, with a mean age of 7.7 ± 0.2 years, 26.4% being overweight and 22.4% being obese, with a follow-up at 10.8 ± 0.2 years).

For the study of the acquired immune system molecules, we used a pediatric cohort from Girona Health Centers that was recruited between 2012-2014 at the Dr. Josep Trueta Hospital in Girona (descriptive cross-sectional study). In total, we studied 270 Caucasian school-age children (147 children and 123 girls, with a mean age of 8.4 ± 0.1 years, 24.1% being overweight and 22.2% being obese).

The results of our study showed that overweight and obese children had higher values of α -defensins and lower BPI values than lean children. α -Defensins were associated with an unfavorable metabolic profile at 7 years and were predictors of BMI and abdominal perimeter at 7 and 10 years of age. In contrast, plasma BPI

levels were associated with a more favorable metabolic profile and were predictors of the abdominal perimeter at 7 years of age.

In terms of acquired immunity, overweight and obese children showed higher IgG and IgA immunoglobulin values than lean children, whereas serum immunoglobulin IgM levels were similar in all study groups. IgG and IgA levels, were associated with a less favorable metabolic phenotype, especially in obese children and were independent predictors of HOMA-IR and TG at 7 years of age.

Our results suggest an additional role of innate and acquired immunity in the regulation of insulin resistance and obesity in the pediatric age. Early detection of decreased concentrations of BPI and increased levels of α -defensins and immunoglobulins (IgG and IgA) may contribute to predict weight gain, especially of abdominal type, and the appearance of insulin resistance in prepubertal children and therefore, help to prevent the development of childhood obesity.

INTRODUCCIÓ

1 INTRODUCCIÓ

1.1 RISC CARDIOVASCULAR I OBESITAT INFANTIL

La prevalença de l'obesitat infantil s'ha triplicat en els últims anys. L'obesitat (especialment l'obesitat abdominal) és un factor de risc de malaltia metabòlica i cardiovascular (dislipèmia, alteració hidrocarbonada, hipertensió arterial (HTA) i malaltia arterioscleròtica)¹.

Es considera que existeixen tres períodes de màxima plasticitat en el desenvolupament del ser humà: etapa prenatal, post natal precoç i pubertat. Estudis recents han revelat que alteracions del desenvolupament en aquestes etapes condicionen el risc d'obesitat i de malaltia cardiovascular. Així doncs, aquestes etapes, esdevenen finestres d'oportunitat per a la prevenció precoç del risc metabòlic i cardiovascular de l'individu.

L'obesitat no només és una malaltia en sí mateixa, sinó que a més, està involucrada en l'aparició d'altres malalties². De fet es considera que l'obesitat pot afectar desfavorablement a qualsevol òrgan o sistema del cos humà. Però a l'hora de valorar les conseqüències que l'obesitat té per a la nostra salut hem de considerar, no només la magnitud de l'obesitat, sinó també la distribució del greix en el cos. Així doncs, hi ha malalties que estan més relacionades amb la distribució central del greix corporal (malalties metabòliques i vasculars) i d'altres, com les malalties osteoarticulars, que tenen a veure només amb l'excés de pes en general.

Es coneix que l'obesitat visceral o central s'acompanya d'un increment del risc cardiovascular degut a que comporta la presència de dislipèmia, HTA i insulinoresistència. Les conseqüències de la insulinoresistència sobre el metabolisme lipídic són dues. En primer lloc es produeix un increment de la lipòlisi a nivell del teixit adipós visceral. Això origina una major disposició d'àcids grassos lliures al fetge i incrementa la síntesi de triglicèrids (TG) i de colesterol VLDL ("very low density lipoproteins", lipoproteïnes de molt baixa densitat). En segon lloc, es produeix una disminució de la hidròlisi dels TG circulants produint un increment addicional de la trigliceridèmia. També es produeix una disminució del colesterol HDL ("high density lipoproteins", lipoproteïnes d'alta densitat). En conjunt, tot això provoca un increment del risc cardiovascular³.

La dislipèmia associada a l'obesitat visceral també està condicionada per l'increment de cortisol en sang. Una resposta inadequada davant de l'estrès pot originar una secreció excessiva de glucocorticoides i s'ha descrit que a nivell del greix visceral, existeix més densitat de receptors de glucocorticoides. La participació de l'eix hipotàlam-suprarenal ha conduït a considerar l'obesitat com una part del síndrome plurimetabòlic⁴.

1.1.1 OBESITAT

L'obesitat és una malaltia crònica, complexa i multifactorial que normalment s'inicia en la infància i adolescència. L'obesitat infantil, al igual que la de l'adult, ha experimentat un increment progressiu durant els últims 30 anys en tots els països desenvolupats^{5,6}. Per aquesta raó, la Organització Mundial de la Salut (OMS) la va declarar en el 1998 com l'epidèmia del segle XXI.

Des del punt de vista sanitari, l'increment de la prevalença de l'obesitat infantil comporta un increment del risc de patologies associades en l'edat adulta, principalment cardiovasculars i endocrino-metabòliques^{7,8} amb un increment secundari de la càrrega socio sanitària.

La valoració quantitativa del greix corporal del nen i de l'adolescent s'efectua per mitjà de dues estratègies diferents: estimació (mitjançant la valoració de paràmetres antropomètrics: pes, talla, índex de massa corporal (IMC) i índex cintura-maluc o perímetre abdominal) o per mesura directa (utilitzant tècniques específiques com la densinometria o la impedanciometria bioelèctrica). De tots aquests mètodes, l'estimació indirecta amb l'IMC és el més utilitzat.

1.1.1.1 Índex de massa corporal: IMC

L'IMC, descrit per Quetelec⁹ el 1832 es calcula dividint el pes (en kilograms) entre el quadrat de la talla (en metres): $\text{pes}/\text{talla}^2=\text{kg}/\text{m}^2$. No és, per tant un índex propi de la natura sinó un índex matemàtic. Així doncs, tot i que té importants limitacions, és útil per a la detecció o el cribratge poblacional d'individus amb excés de greix corporal per damunt d'un determinat llindar¹⁰. És fàcil de determinar i presenta una bona correlació amb el compartiment gras i amb els desordres metabòlics associats a l'obesitat¹¹.

En adults, s'estableix el valor normal d'IMC entre 20 i 25 kg/m^2 , considerant l'existència de sobrepès quan l'IMC es troba entre 25 i 29'9 Kg/m^2 i d'obesitat quan és igual o superior a 30 kg/m^2 . Però a nivell de la població infanto-juvenil, els punts de tall són més dificultosos, donades les característiques de creixement i desenvolupament pròpies d'aquest període que dificulten la definició de valors absoluts de pes, talla i IMC. Per aquest motiu, es comparen aquests paràmetres del nen amb valors de referència en funció de l'edat, el sexe i la població a la que pertanyen i s'expressen com valor z de pes talla i IMC (pes-SDS, talla-SDS i IMC-SDS). En aquest treball hem fet servir les taules de Carrascosa¹² (gràfiques de creixement, realitzades entre l'any 2000 i el 2010 a nivell de diferents comunitats autònomes: Andalusia, Aragó, Catalunya, Madrid i País Basc).

L'evolució del valor z de l'IMC reflecteix les etapes del creixement del teixit adipós infantil. Al naixement hi ha un increment ràpid del teixit adipós que engloba tot el primer any de vida, seguit d'una disminució fins als 6 anys. Posteriorment hi ha un nou rebot de l'increment del teixit adipós que es produeix a partir dels 6 anys d'edat. L'edat d'inici d'aquest rebot del teixit adipós sembla ser el millor marcador d'obesitat de l'edat adulta. Quan més precoç és aquest rebot, més gran és el risc de patir obesitat o d'alguna de les seves comorbiditats associades a l'edat adulta⁵.

A més a més, s'han descrit estudis longitudinals que suggereixen que l'obesitat infantil, després dels 3 anys de vida, s'associa a llarg termini amb un major risc d'obesitat en l'edat adulta i amb un increment de les malalties associades, com la resistència a la insulina, la diabetis tipus 2 i les malalties cardiovasculars⁷.

1.1.1.2 Perímetre abdominal

El greix abdominal es distribueix en dos compartiments: el subcutani, que en adults predomina en el sexe femení, i el visceral, que és major en el sexe masculí¹³.

El perímetre abdominal, valora indirectament el greix a nivell abdominal essent, a nivell individual, el millor predictor de la grassa visceral en nens i adolescents¹⁴. Això, fa que sigui considerat un bon marcador de risc cardiovascular i metabòlic en escolars¹⁴.

Al igual que ens passa amb l'IMC, per interpretar el resultat del perímetre abdominal, necessitem comparar-lo amb estàndards poblacionals. En aquest cas, es recomana l'ús de patrons nacionals, donat que existeix molta variabilitat geogràfica¹⁵. El principal problema en l'edat pediàtrica és, de nou, definir quin punt de tall segons sexe i edat, i en els diferents grups ètnics. En el nostre país, en població pediàtrica, existeixen diferents taules de referència. Destaquen les realitzades per Moreno i col·ls. el 1999 (que inclouen nens de 6 a 14'9 anys de la província de Saragossa)¹⁶ i el 2007 (que inclouen dades d'adolescents de 13 a 18 anys de Granada, Madrid, Santander, Saragossa i Murcia)¹⁷. També disposem de les dades de l'estudi enKid, recollides entre el 1988 i el 2000 i que inclouen valors de nens i adults entre 2 i 25 anys representatius del territori nacional¹⁸. A nivell de Catalunya s'utilitzen les taules de Carrascosa¹².

1.1.1.3 El teixit adipós

Degut a la seva capacitat per captar àcids grassos lliures del torrent circulatori i acumular-los en forma de TG, clàssicament, el teixit adipós s'ha considerat com un teixit d'emmagatzematge d'energia.

Els estudis d'aquest teixit s'han centrat a determinar la seva relació amb el metabolisme i l'emmagatzematge d'àcids grassos, el desenvolupament del propi teixit i la seva resposta a senyals endocrines i neuronals. Tot i això, ja des dels anys 40, s'hipotetitzava sobre l'existència d'una comunicació entre el teixit adipós i altres teixits.

Durant les últimes dècades s'han identificat diferents proteïnes secretades pels adipòcits que actuen sobre altres teixits, conferint així una funció endocrina important al teixit adipós¹⁹.

1.1.1.3.1 Característiques del teixit adipós

El teixit adipós està format per adipòcits i teixit connectiu altament vascularitzat i innervat on trobem preadipòcits, macròfags, cèl·lules endotelials, fibroblasts i leucòcits. La composició multivariada del teixit adipós fa que sigui un important mediador en el metabolisme i en la inflamació. La seva localització és majoritàriament en la regió subcutània (teixit adipós subcutani) i al voltant de les vísceres (teixit adipós visceral)¹⁹.

Les cèl·lules específiques del teixit adipós, els adipòcits, presenten la capacitat d'acumular àcids grassos en forma de TG quan hi ha un excés d'energia i d'alliberar-los en cas de necessitat energètica. Per dur a terme aquestes accions, els adipòcits expressen tots els enzims necessaris per a la lipòlisi i la lipogènesi i també per a la síntesis dels àcids grassos.

Amb l'acumulació d'energia el teixit adipós es va expandint. Els adipòcits secreten substàncies proinflamatòries que promouen la inflamació sistèmica. A més a més, els adipòcits hipertrofiats amb alt contingut lipídic moren i alliberen el seu contingut a l'espai intersticial, fet que facilita el reclutament de neutròfils i macròfags. En pacients obesos, aquest reclutament de macròfags comporta una inflamació crònica de baix grau (Figura 1).

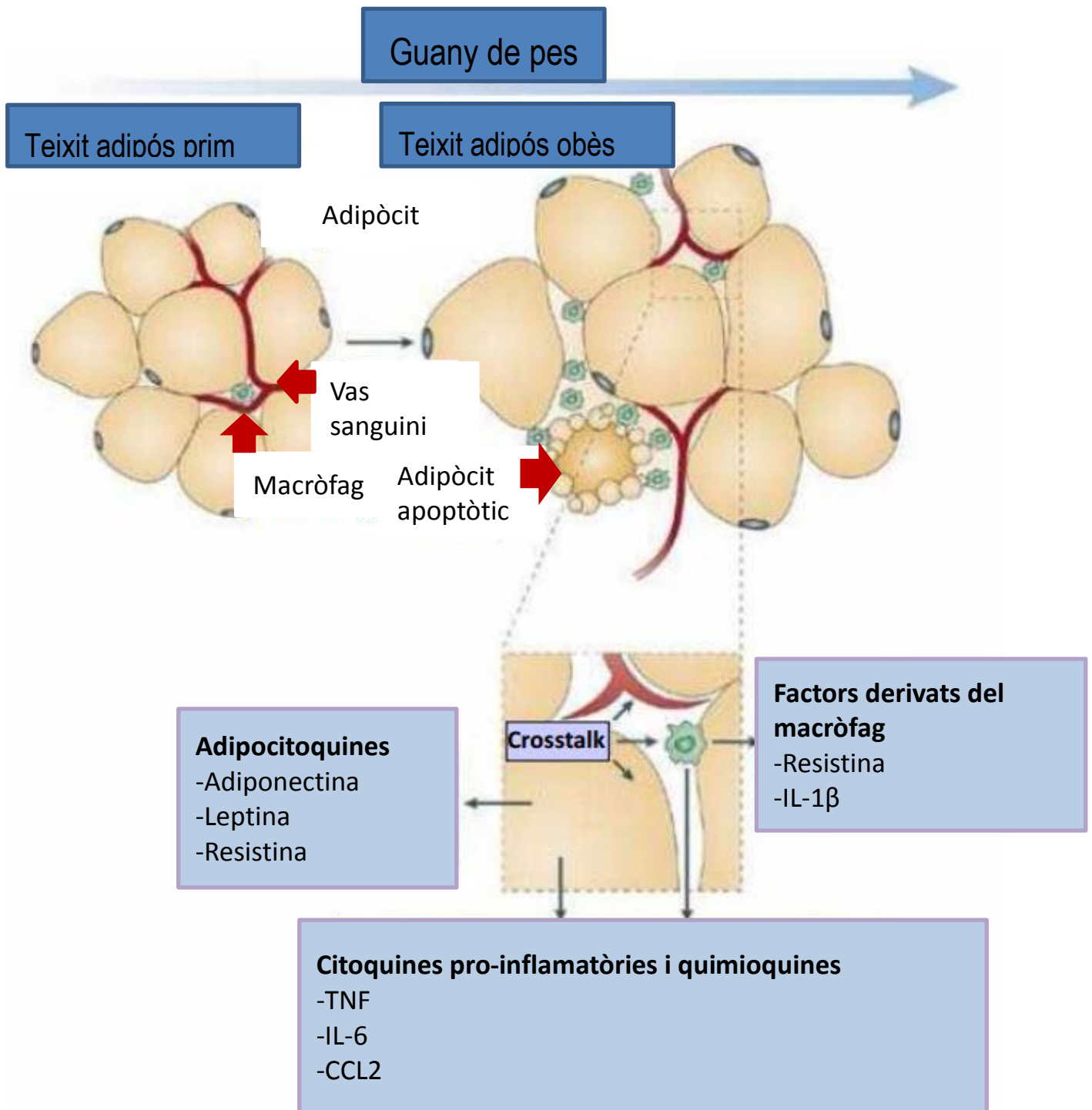


Figura 1. Conseqüències de l'augment de teixit adipós en pacients obesos.
Adaptat de Kennedy A. J Nutr 2009;139:1-4.

1.1.1.3.2 El teixit adipós com a òrgan endocrí

Des de fa uns anys, s'ha descrit que el teixit adipós no només respon a nutrients, senyals hormonals i neuronals, sinó que també produeix i secreta determinades hormones (Figura 2). Per això, es considera com un òrgan endocrí, que pot actuar sobre altres teixits²⁰.

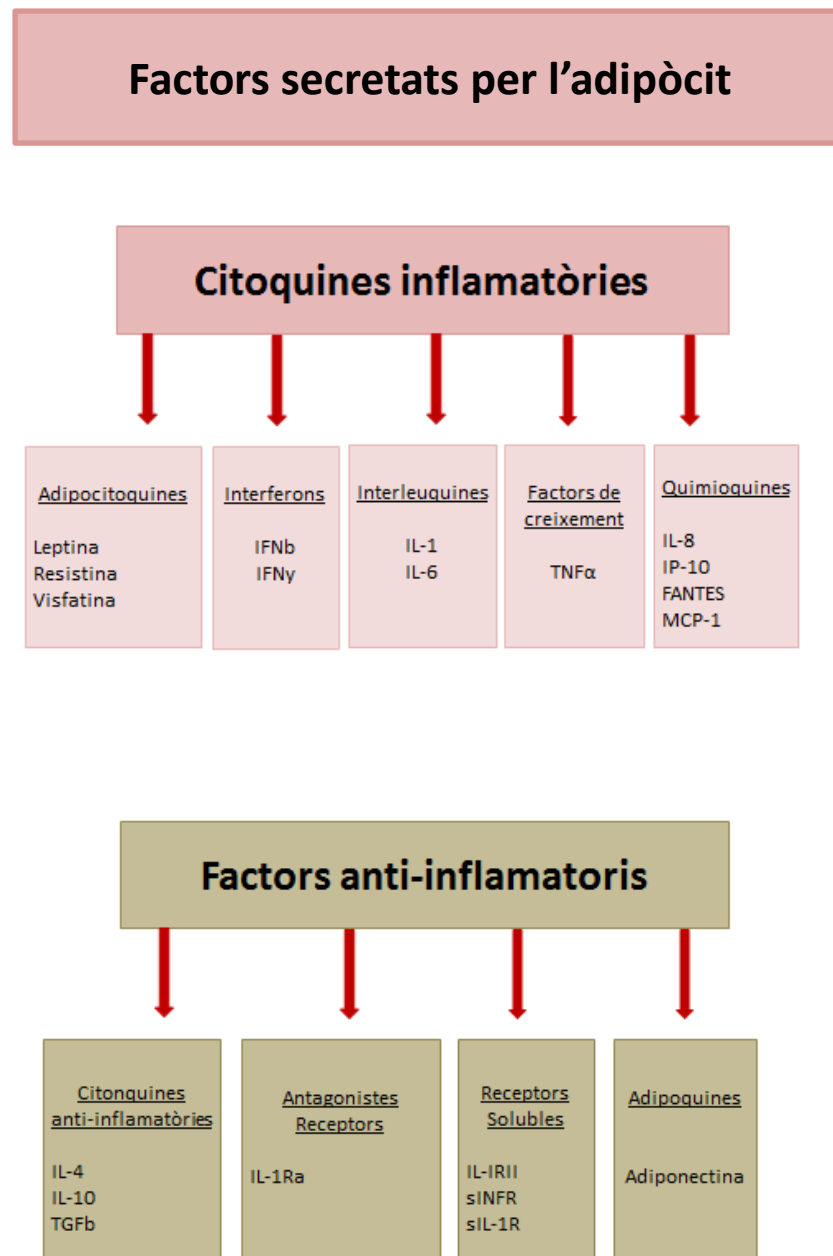


Figura 2. Quadre resum dels factors inflamatoris i antiinflamatoris secretats pel teixit adipós. Adaptat de Wozniak SE. Dig Dis Sci 2009; 54:1847-56.

Mitjançant aquests senyals moleculars, l'adipòcit participa en la regulació de múltiples funcions cel·lulars i es comunica amb les cèl·lules d'altres teixits localitzats en òrgans distants, com l'hipotàlem, el pàncrees, el fetge, el múscul esquelètic, els ronyons, l'endoteli i el sistema immune. (Figura 3).

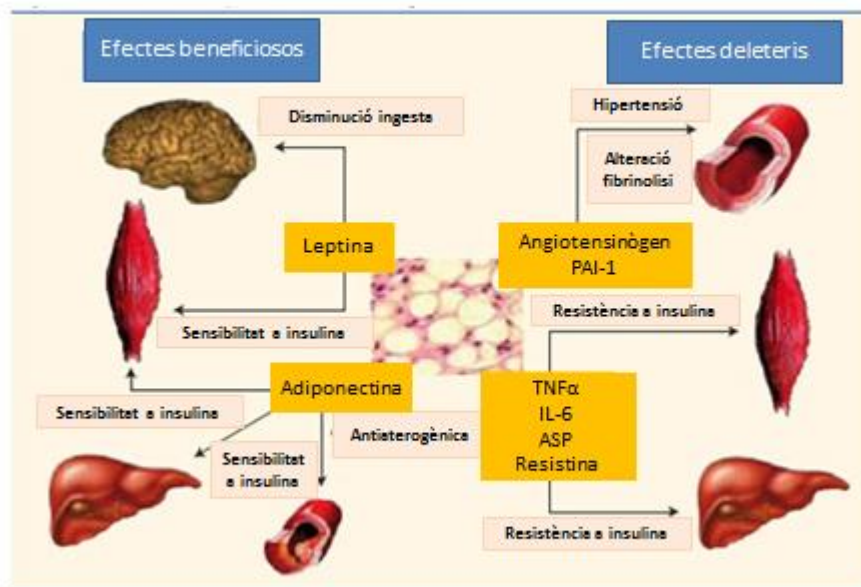


Figura 3. Factors secretats pel teixit adipós implicats en la homeòstasi energètica, la sensibilitat a la insulina i la homeòstasi vascular.
Adaptat de Menéndez A. Rev Pediatr Aten Primaria 2009;11 Supl 16:s259-s277.

Una de les hormones més importants secretada pel teixit adipós és l'adiponectina²⁰. Tot i això, d'altres adipoquines importants són expressades i secretades pel teixit adipós. Aquestes són: la leptina, la visfatina i el factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), entre d'altres²⁰.

1.1.1.3.3 L'Adiponectina

L'adiponectina és una proteïna produïda principalment pel teixit adipós i alliberada al torrent circulatori a concentracions elevades. Aproximadament, la concentració d'adiponectina (5-10 $\mu\text{g/ml}$) representa un 0.01% del total de proteïnes sèriques²¹.

Una de les característiques més importants de l'adiponectina és que disminueix en casos d'obesitat i en la diabetis^{22,23}. A més a més, les concentracions d'aquesta hormona en el torrent sanguini es correlacionen negativament tant amb la grandària dels adipocits com amb el percentatge de greix corporal²¹⁻²⁴.

Existeix també un dimorfisme sexual per a la seva concentració sèrica. Concretament, les dones presenten uns valors més elevats d'aquesta hormona que no pas els homes, degut a que els andrògens tenen un efecte inhibidor de la síntesi d'adiponectina²⁵.

En els últims anys, l'adiponectina ha estat una de les adipoquines més estudiades pel seu important paper com a nexse d'unió entre l'obesitat, la resistència a la insulina i les malalties cardiovasculars (Figura 4).

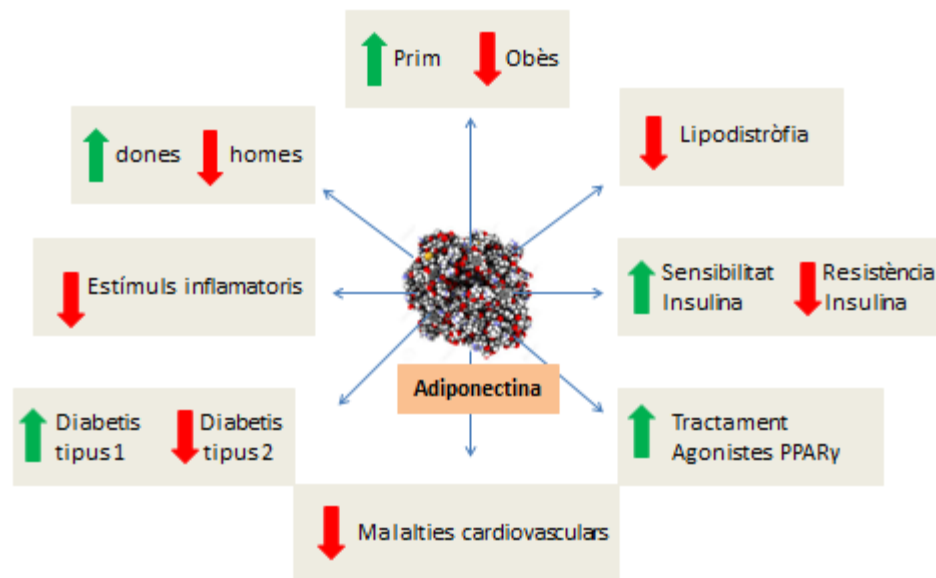


Figura 4. Factors o estats patològics que afecten els nivells d'adiponectina. Resum de les diferents condicions o malalties que estan associades a nivells alts (fletxa verda) o nivells baixos (fletxa vermella) d'adiponectina. Adaptat de Nedvidkova J. *Physiol Res* 2005; 54:133-134.

1.1.1.3.4 Estructura de l'Adiponectina

L'adiponectina és una proteïna de 30 kDa formada per 244 aminoàcids i codificada per tres exons del gen ADIPOQ localitzat en el cromosoma 3q27²⁶⁻²⁸.

La molècula de l'adiponectina presenta 4 regions diferents: la primera consisteix en un pèptid senyal curt a l'extrem N-terminal que permet la secreció de la hormona a l'exterior de la cèl·lula. La següent regió consisteix en un fragment petit que canvia segons les espècies. La tercera és un domini de col·lagen de 65 aminoàcids. I finalment, la regió C-terminal consisteix en un domini globular (Figura 5).

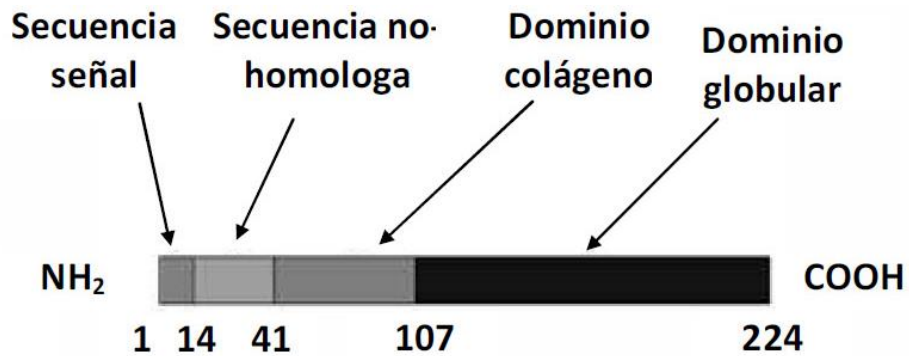


Figura 5. Estructura de l'adiponectina on s'observen els quatre dominis i el nombre d'aminoàcids que componen aquests dominis.
Adaptat de Ebrahimi-Mamaeghami M. *Vascular Health and Risk Management* 2015;11:50-70.

1.1.1.3.5 Adiponectina d'alt pes molecular

L'adiponectina no circula mai en forma de monòmers, sinó que, a causa de les interaccions en el domini del col·lagen, l'estructura monomèrica s'agrega formant diferents formes multimèriques. Aquestes formes inclouen l'adiponectina de baix pes molecular (BPM) formada per la unió de tres monòmers. La forma hexamèrica, de pes molecular mitjà (PMM), formada per la unió de dos trímers mitjançant ponts disulfur, i la forma d'alt pes molecular (APM), d'aproximadament 500 kDa, constituïda per la unió no covalent de vuit o més hexàmers (Figura 6).

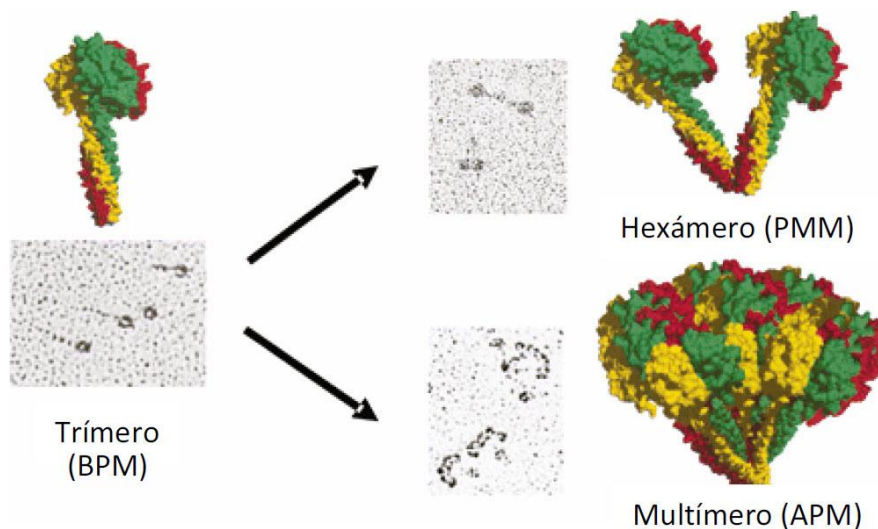


Figura 6. Diferents formes moleculars de l'adiponectina. Giannessi D et al. *Adiponectin circulating levels: a new emerging biomarker of cardiovascular risk*. *Pharmacological Research* 2007; 56(6):459-67.

Es postula que la funció biològica i els mecanismes de secreció són diferents per a cada una de les formes d'adiponectina. A més a més, s'ha suggerit que el percentatge de cada forma en relació amb l'adiponectina total pot variar en funció de les diferents condicions fisiològiques²⁹.

Estudis dels darrers anys demostren que la forma d'APM és la que està considerada com la forma biològicament activa de la proteïna i la que s'ha relacionat amb el desenvolupament de la síndrome metabòlica²⁴. Concretament, s'ha demostrat que baixes concentracions d'adiponectina d'APM es correlacionen amb diversos components de la síndrome metabòlica i obesitat, tals com una distribució de la massa grassa en la meitat superior del cos, una major resistència a la insulina, una disminució de l'oxidació dels lípids, un augment del colesterol total (CT) i una disminució dels nivells d'HDL^{22, 24}.

Aquestes observacions indiquen la importància, des del punt de vista clínic de mesurar les concentracions d'adiponectina d' APM en sang dels pacients²⁹.

1.1.2 HIPERCOLESTEROLÈMIA

En les darreres dècades, coincidint amb el desenvolupament industrial d'Espanya i Catalunya, s'ha detectat un increment progressiu d'hipercolesterolèmia en la població infantil espanyola. El colesterol i la seva fracció HDL s'ha correlacionat amb la talla, el pes, la tensió arterial sistòlica (TAS), la tensió arterial diastòlica (TAD) i la glucèmia. El colesterol total (CT) s'ha correlacionat positivament amb les xifres de TG³⁰⁻³².

Estudis epidemiològics realitzats en el nostre país, presenten una alta taxa de prevalença de nens amb xifres de CT per damunt de 200 mg/dl^{33,35}. A més a més, sabem que les concentracions de lípids en la infància són predictors de les que es presentaran més endavant en l'edat adulta³³⁻³⁷. Es coneix que, tant els nens com els adolescents que tenen uns nivells elevats de CT, tenen una major probabilitat de presentar hipercolesterolèmia en l'edat adulta, més que la resta de la població. Durant l'adolescència el CT és més elevat en nenes que no pas en nens. Així mateix, en ambdós sexes, el CT baixa de forma important en els primers anys de l'adolescència per elevar-se posteriorment durant els darrers anys³³⁻³⁵.

Alguns autors han posat de manifest la relació existent entre la presència de lesions arterioscleròtiques greus en adolescents i les concentracions de lípids abans de la seva mort^{35,38}. El procés ateroscleròtic comença en la infantesa i progressa lentament durant l'adolescència conduint posteriorment al desenvolupament de la cardiopatia isquèmica. Els factors de risc que acceleren l'aterosclerosi i la cardiopatia isquèmica en els adults, entre ells la hipercolesterolèmia, actuen ja en edats joves³³⁻³⁵.

La presència d'una hiperlipèmia familiar incrementa el risc de desenvolupar cardiopatia isquèmica prematura. Per aquest motiu, es recomanable la determinació del CT en tots els nens amb història familiar de malaltia cardiovascular prematura o quan un dels pares té història d'una hiperlipèmia familiar³⁵. Les estries grasses de les artèries coronàries es correlacionen amb el colesterol VLDL.

Aquestes dades suggereixen que s'ha de prevenir el seu desenvolupament ja des de les primeres edats de la vida³⁵.

1.1.3 HIPERTENSIÓ

El concepte d'hipertensió (HTA) com a problema de salut en la infància comença a perfilar-se a la dècada dels anys 60. Apareixen estudis epidemiològics a gran escala en els quals es posa de manifest que la HTA lleugera i moderada és més comú del que fins aleshores es pensava, tant a la infància com a l'adolescència. Tot i que la prevalença de la HTA és molt menor en els nens que en els adults, s'han de dedicar esforços per identificar els factors ambientals que influeixen en el desenvolupament de la HTA i dissenyar estratègies d'intervenció a les primeres etapes de la vida per reduir-ne la prevalença a l'edat adulta.

La HTA exerceix els seus efectes nocius a través de diferents mecanismes. En primer lloc, pels canvis hemodinàmics que es produeixen en la HTA crònica: la compliança vascular (capacitat de distensió d'un vas sanguini) es troba disminuïda, la velocitat de flux sanguini s'incrementa i la viscositat de la sang també. En segon lloc, es produeix disfunció endotelial, que implica una major adherència de macròfags i plaquetes a l'endoteli amb invasió de monòcits en la capa subíntima. En tercer lloc, les plaquetes produeixen el factor de creixement derivat de les plaquetes que pot alliberar citoquines i desencadenar un procés inflamatori. La HTA pot desencadenar també una resposta proliferativa en les cèl·lules musculars llises per estirament mecànic d'aquestes, així com per la presència de substàncies tipus angiotensina i norepinefrina. En quart lloc, es produeixen alteracions de la funció plaquetària, tornant-se les plaquetes més proclius a l'agregació, segurament per modificacions de l'estructura i funció de la membrana plaquetària, així com per l'efecte de substàncies vasoactives com l'angiotensina, l'epinefrina, i la vasopresina entre d'altres. L'increment de la capa muscular i del teixit connectiu de la paret arterial en la HTA crònica condueix a una disminució de l'aclaració de lipoproteïnes. S'ha comprovat, mitjançant l'increment de la permeabilitat parietal, que afavoreix la deposició d'aquestes³⁹.

A partir d'un estudi organitzat per el *NIH Task Force on Blood Pressure Control in Children* es va definir la HTA en nens com la tensió arterial (TA) igual o superior al percentil 95 de la distribució per edat i sexe. El darrer informe de la Task Force, seguint la línia del primer, exposa que el diagnòstic d'HTA en el nen es

realitza amb xifres molt inferiors a les de l'adult i que la TA, tot i que és més baixa en el nen, va augmentant progressivament durant les primers dècades del vida⁴⁰.

1.1.4 RESISTÈNCIA A LA INSULINA

La resistència a la insulina és un estat patològic en el qual l'organisme és incapaç de respondre de manera normal a les accions de la insulina, requerint més concentracions d'insulina del que és normal per tal de mantenir uns nivells de glucosa en sang saludables⁴¹. Es basa, sobretot, en la inhabilitat del múscul i del teixit adipós per captar la glucosa i la inhabilitat del fetge per suprimir la formació de glucosa en resposta a concentracions creixents d'insulina (Figura 7).

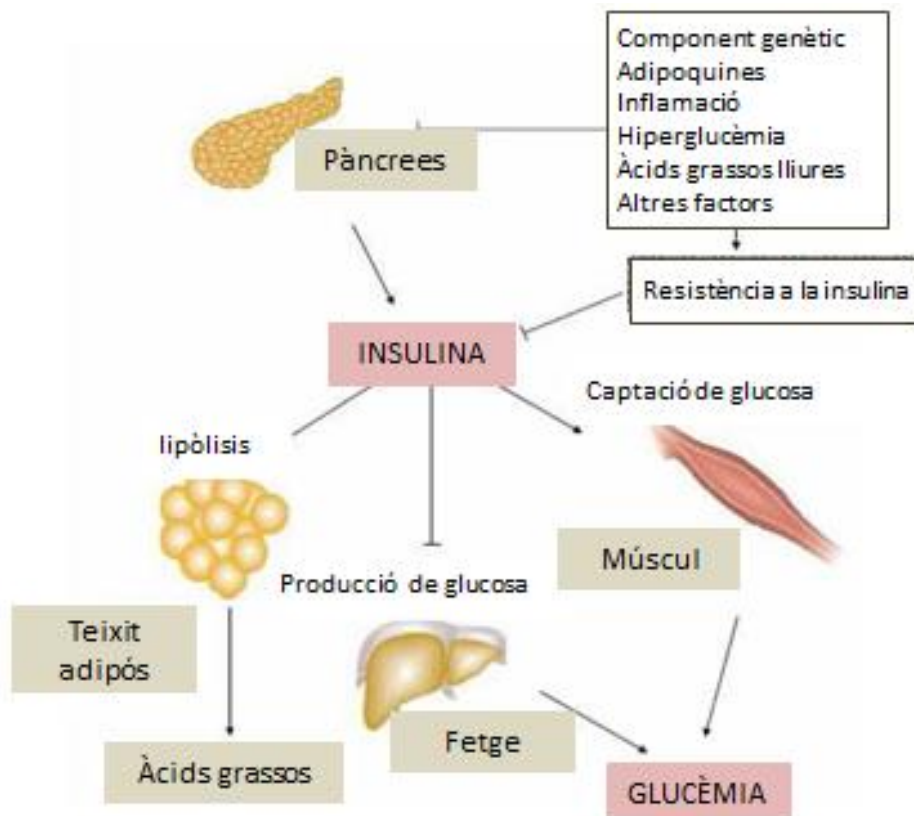


Figura 7. Principals teixits implicats en el metabolisme glucolipídic regulat per la insulina, amb implicacions en l'etiopatogènia de la resistència a la insulina.
Adaptat de Inove H. Biomedical Reviews 2011;22:31-39.

La insulina desencadena respostes metabòliques pleiotròpiques, unint-se i activant un receptor específic de la membrana plasmàtica, amb activitat tirosina-quinasa⁴². Els substrats d'aquest receptor, principalment les

proteïnes IRS (*insulin receptor substrate*), són fosforilades en els seus residus de tirosina, de manera que serviran com a ancoratge de proteïnes adaptadores que activaran diferents rutes de senyalització. Les alteracions en la regulació d'un o diversos punts d'aquesta ruta de senyalització actuen com a factors desencadenants de la resistència a la insulina.

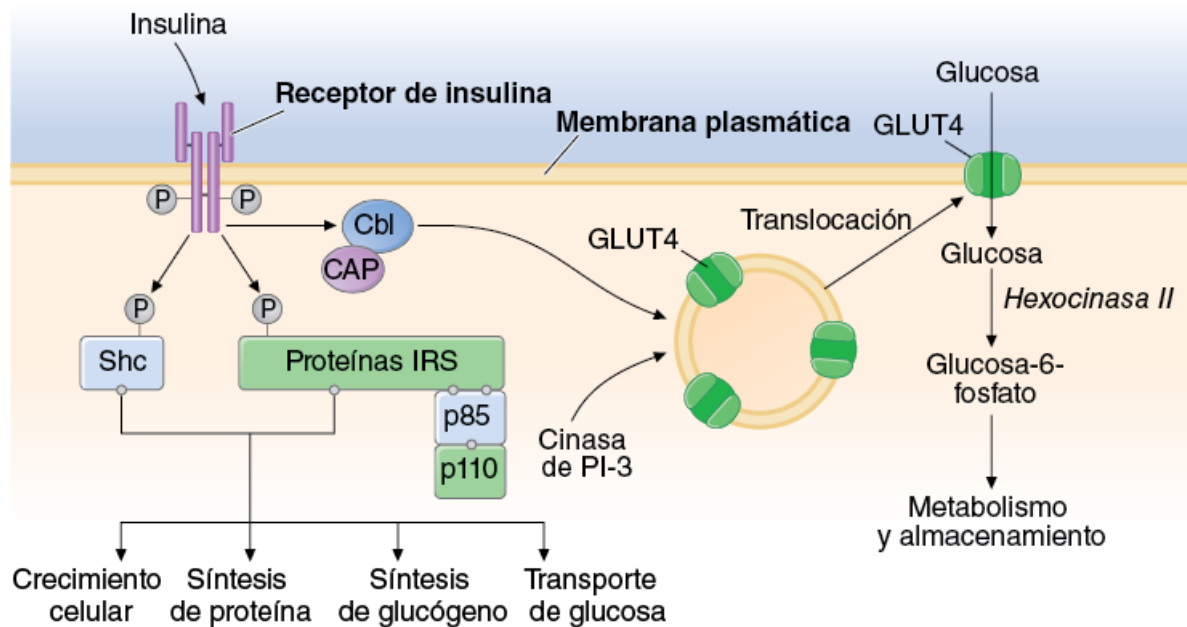


Figura 8. Representació esquemàtica de les principals accions de la insulina.
Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J: Harrison Principios de Medicina Interna, 18a edició.

Es coneix que un excés de teixit adipós altera l'expressió d'algunes proteïnes amb funció endocrina. L'expressió alterada, provoca efectes perjudicials en els teixits perifèrics sensibles a la insulina, induint o contribuint al desenvolupament de la resistència a la insulina. S'ha proposat també, la hipòtesi que l'absència de compartiments especialitzats en l'emmagatzematge de lípids, o bé, la seva deficiència, podria associar-se amb formes greus de resistència a la insulina⁴³.

L'associació tan estreta entre l'obesitat i la resistència a la insulina i la seva progressió cap a la diabetis tipus 2 (quan la secreció de la insulina no pot compensar la resistència a la insulina en els teixits perifèrics) és un greu problema de salut. La identificació dels factors que contribueixen al desenvolupament de la resistència a la insulina és el primer pas per establir les bases moleculars d'aquesta alteració metabòlica.

Existeixen diverses tècniques utilitzades per mesurar la resistència o sensibilitat a la insulina, però en l'edat pediàtrica no hi ha un estàndard internacionalment acceptat per definir-la i quantificar-la. Això es deu, en part, a la varietat de tècniques utilitzades per mesurar la sensibilitat insulínica, la variabilitat entre elles i l'absència d'estudis en grans cohorts de nens i estudis longitudinals que correlacionin xifres d'insulina amb events adversos cardiovasculars. De totes maneres, una de les tècniques més usades és l'índex HOMA-IR.

1.1.4.1 L'índex HOMA-IR:

L'índex HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*) va ser desenvolupat el 1985 per Matthews et al⁴⁴. La seva base metodològica és un model matemàtic desenvolupat a partir de dades conegudes de la relació de interdependència entre la glucèmia i la insulina. Aquest model, es basa en que, quan existeix una resistència a la insulina, la glucèmia tendeix a mantenir-se a prop de la normalitat gràcies a una secreció incrementada compensadora d'insulina i viceversa; quan existeix una secreció inadequada d'insulina, aquesta tendeix a mantenir-se al voltant dels valors de la normalitat a expenses d'una glucèmia basal elevada.

A partir d'aquestes dades i, després d'un complex desenvolupament metodològic, es va trobar una fórmula amb la qual una determinada combinació de resistència a la insulina i defecte secretor d'insulina es correspon amb una combinació única de glucèmia i insulinèmia⁴⁵. Per a la seva determinació és necessari conèixer la insulinèmia i la glucèmia en dejú i es calcula com: $\text{insulina en dejú } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glucèmia en dejú } (\text{mmol/L}) / 22.5$.

El seu principal inconvenient és una alta variabilitat intraindividual pròxima al 30%, degut a la pulsabilitat de la secreció de la insulina en resposta a l'estrès i a l'exercici i que reflecteix, fonamentalment, la resistència a nivell hepàtic que és la que predomina en dejú. Tot i això, ha sigut àmpliament utilitzat en estudis de població pediàtrica^{42,46-48}.

1.1.5 MALALTIA CORONÀRIA

La malaltia cardiovascular arterioscleròtica és una de les primeres causes de mort en els adults en les societats occidentals i està fortament associada amb la síndrome metabòlica i la diabetis tipus 2⁴⁹. Actualment, l'obesitat pediàtrica, sobretot la de tipus androide (obesitat central o abdominal), s'associa a un increment del risc de malaltia cardiovascular, tan en els homes com en les dones.

El risc coronari depèn tant de la intensitat com de la durada de la sobrecàrrega adiposa central, és a dir, els adults amb obesitat androide, que ja ho eren a la infància, presenten més risc coronari que aquells que ja eren primers⁵.

En nens la malaltia coronària no existeix o és poc freqüent però es poden trobar indicis d'aterosclerosi. Durant els darrers anys han sorgit marcadors de malaltia coronària en adults com poden ser la PCR ultrasensible (PCRus) i el gruix de la íntima-mèdia carotídia (GIMc).

1.1.5.1 PCR ultrasensible (PCRus)

La proteïna C reactiva és un marcador no específic d'inflamació i un predictor de malaltia coronària, de malaltia cardiovascular i de malaltia cardiovascular subclínica. Durant els darrers anys, l'evidència disponible suggereix que un increment moderat de la concentració de PCRus incrementa el risc d'infart de miocardi i de malalties cerebrovasculars⁵⁰⁻⁵³.

La PCRus i altres marcadors d'inflamació i oxidació són candidats per millorar la predicció del risc cardiovascular. El seu paper com a marcadors d'inflamació pot ser rellevant, donat el component inflamatori (ja demostrat) que presenten aquestes malalties⁵³. Tot i això, encara és controvertit si la PCRus pot proporcionar un pronòstic significatiu per sobre d'altres factors de risc més tradicionals^{54,55}. En adults, hi ha diversos estudis que demostren l'ús de la PCRus com a marcador de risc cardiovascular^{56,57}.

En nens, s'ha investigat la relació de la PCR amb factors de risc clàssic i amb l'obesitat⁵⁸. S'ha plantejat que l'exposició a factors de risc cardiovasculars des de la infància (obesitat, hipercolesterolèmia familiar, diabetis) en pacients genèticament predisposats, podria induir a la producció de canvis en les artèries que facilitarien el desenvolupament d'aterosclerosi precoç⁵⁹. En estudis d'anatomia patològica d'artèries de nens amb obesitat, s'han observat lesions precoces (estries lipoides i engruiximent de la íntima)⁶⁰. Estudis en nens han demostrat l'associació directa i significativa de la PCRus amb el grau d'adipositat (sobretot amb l'IMC) però no amb marcadors d'aterosclerosi subclínica (com el gruix de la íntima mèdia carotídia i la funció endotelial mediada pel flux a nivell de l'artèria braquial)^{53,61}.

1.1.5.2 Gruix de la íntima-mèdia carotídia (GIMc)

L'estructura arterial està formada per tres túniques que s'anomenen, des de la llum arterial fins a la perifèria com a: íntima arterial, capa mèdia o músculo-esquelètica i capa externa o adventícia. El GIMc es defineix com la distància entre els marges de les interfases entre la llum arterial-íntima i entre la mèdia-adventícia.

Cal recordar, que la disfunció endotelial forma part de la patogènesi de l'arteriosclerosi i que és un marcador de dany que precedeix a la formació de la placa. Conduïx a una disminució de la dilatació mediada pel flux de les artèries i estaria induïda predominantment per l'alliberació d'òxid nítric endotelial i conduiria posteriorment a un engruiximent de la íntima i la capa mèdia arterial⁶².

L'ecografia d'alta resolució, ha demostrat ser un excel·lent mètode no invasiu per avaluar la disfunció endotelial present en tot l'arbre arterial. És capaç de detectar canvis funcionals inicials com la pèrdua de la dilatació depenent de l'endoteli, l'engruiximent de l'endoteli o la formació de petites plaques (Figura 9)^{63,64}. Aquestes manifestacions són marcadors de malaltia arterioscleròtica subclínica i s'associen a diversos factors de risc cardiovascular⁶⁵⁻⁷⁰.

Estudis previs han demostrat una disminució de la dilatació mediada pel flux de les artèries i un increment del gruix de la íntima-mèdia d'aquestes artèries en nens i adolescents amb hipercolesterolèmia familiar heterozigota, hiperlipidèmia familiar combinada, diabetis tipus 1, homocistinúria homozigota i en fills de pares amb malaltia coronària precoç⁶⁸⁻⁷¹. Hi ha escassa evidència d'aquestes alteracions en nens obesos⁷²⁻⁷⁵.

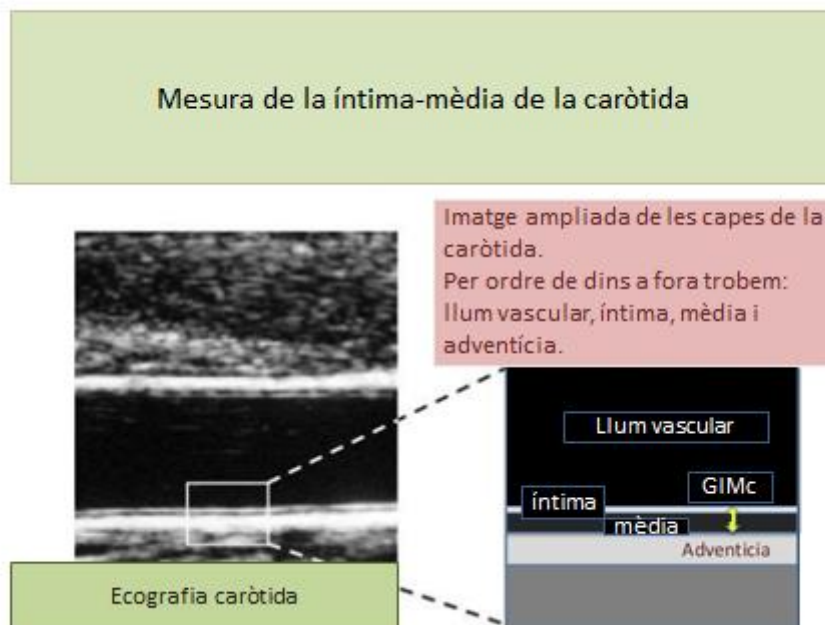


Figura 9. Mesura del gruix de la íntima-mèdia carotídia (GIMc).

1.1.6 SÍNDROME METABÒLICA

Existeix controvèrsia sobre si la síndrome metabòlica és una veritable entitat clínica o simplement una suma de factors de risc cardiovascular^{76,77}. La síndrome metabòlica descriu un conjunt de factors de risc cardiovascular (dislipèmia aterogènica, HTA, hiperglucèmia, obesitat, estat protrombòtic i proinflamatori) que tendeixen a presentar-se conjuntament.

L'origen de la síndrome metabòlica és multifactorial però té dos pilars molt relacionats: l'obesitat i la resistència a la insulina⁷⁸. Hi ha altres factors que modulen la interacció entre ells com la inactivitat física, factors genètics, anomalies endocrinològiques o alteracions en el metabolisme lipídic o glucèmic (Figura 10).

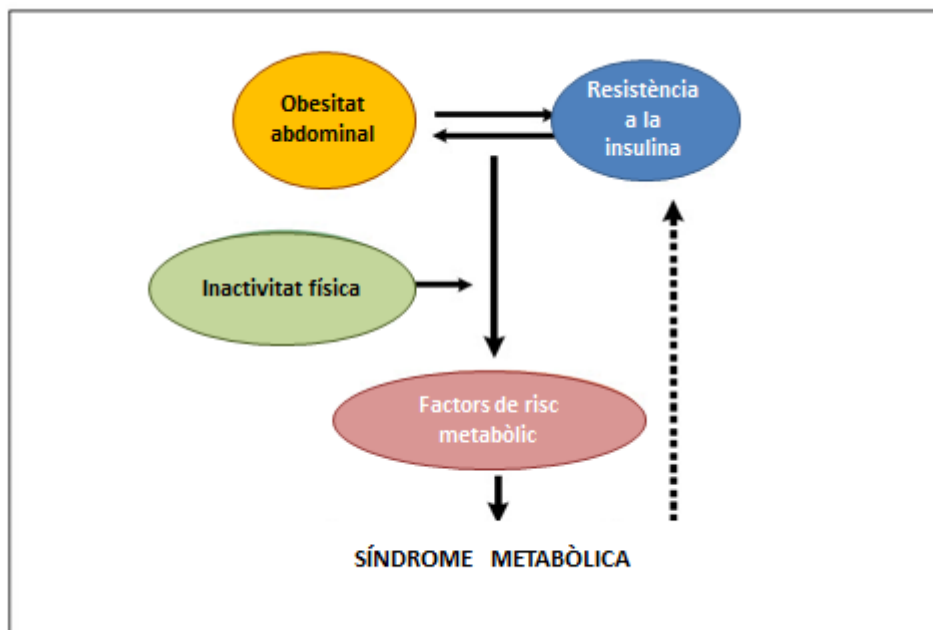


Figura 10. Factors associats al desenvolupament de la síndrome metabòlica. Lizarzaburu J.C. An. Fac. Med. 2013;74(4):315-320.

La síndrome metabòlica, és doncs, un marcador de risc per al desenvolupament de malaltia cardiovascular i DM tipus 2. En un estudi amb nens i adolescents finlandesos de 9 a 18 anys que es van seguir durant 21 anys, es va demostrar que la síndrome metabòlica en edats precoces s'associava a major rigidesa arterial, mesurada per mitjà de la velocitat de pols arterial (mètode que es correlaciona amb esdeveniments cardiovasculars). Aquest estudi també demostrava que els pacients que presentaven més components de la síndrome metabòlica en la infància i adolescència tenien més velocitat de pols arterial a l'edat adulta i que aquells nens que s'havien recuperat de la síndrome metabòlica durant el seguiment, presentaven menys rigidesa arterial que els altres⁷⁹.

En la mateixa línia, les dades de la *National Heart Lung and Blood Institute Lipid Research Clinics Princeton Prevalence Study* van demostrar que el diagnòstic de la síndrome metabòlica entre els 5 i els 19 anys s'associava a diagnòstic de síndrome metabòlica en l'edat adulta i al desenvolupament de DM tipus 2 als 25 anys de seguiment⁸⁰. Així mateix, Magnussen i col. van demostrar que el diagnòstic de la síndrome metabòlica entre els 9 i els 18 anys, després d'un període de seguiment entre 14 i 27 anys, incrementava 3.4 vegades el risc de presentar una íntima mèdia carotídia més gruixuda i 12.2 vegades el risc de desenvolupar una DM tipus 2⁸¹.

L'anàlisi conjunt de 3 grans estudis (*Fels Longitudinal Study, Muscatine Study i Princeton Followup Study*), amb dades de 1789 pacients, va demostrar que la combinació de factors de risc cardiovascular tenia més sensibilitat i especificitat per predir el desenvolupament de la síndrome metabòlica i de la DM tipus 2 en edat adulta que els diferents marcadors de risc cardiovascular individualment⁸².

Un altre punt de controvèrsia és si el risc cardiovascular que acompanya a la síndrome metabòlica és major a la suma dels riscos dels diferents factors de risc cardiovasculars. Hi ha resultats contradictoris en aquest punt, segurament per les diferents definicions de síndrome metabòlica que s'han utilitzat en diferents estudis.

Dades del *Bogalusa Heart Study i Cardiovascular Risk in Young Finns Study*, van demostrar que quatre definicions diferents de síndrome metabòlica predeïen en nens i adolescents de 9 a 18 anys el desenvolupament d'aterosclerosi subclínica i de DM tipus 2, després d'un període de seguiment de 14-27 anys⁸³.

La síndrome metabòlica és un concepte clínic, no un concepte fisiopatològic de coexistència de diferents factors de risc cardiovascular. Intenta doncs, des d'un punt de vista pragmàtic aconseguir millors resultats clínics i identificar els pacients de risc. El tractament d'aquests pacients, es basa en una intervenció integral sobre l'estil de vida, amb la promoció d'activitat física diària i el control de l'obesitat. Aquest abordatge sembla més efectiu que centrar-se a tractar cada un dels factors de risc per separat⁸⁴. A més a més, el tractament integral ens permet millorar també no només els factors de risc cardiovascular ja coneguts, sinó també aquells més desconeguts o no valorats en la pràctica clínica habitual com la resistència a la insulina, l'estat protrombòtic i proinflamatori o la disfunció endotelial⁸⁵.

En els darrers anys el concepte de la síndrome metabòlica ha anat madurant, i s'ha unificat criteris per al seu diagnòstic tant a nivell dels adults com en els nens^{86,87}. Actualment hi ha diversos criteris diagnòstics proposats per organismes internacionals d'experts, que difereixen entre sí en els seus components i els seus punts de tall (Taula 1).

No hi ha una definició de la síndrome metabòlica consensuada internacionalment, però el criteri més utilitzat pels estudis poblacionals és el de la *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP-ATP III13) que considera que una persona té síndrome metabòlica quan té almenys tres de les alteracions descrites a la Taula 1⁸⁸.

Taula 1. Definicions de la síndrome metabòlica segons la National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III), l'Organització Mundial de la Salut (OMS), l'American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) i la International Diabetes Federation (IDF). Lizarzaburu J.C. An. Fac. Med. 2013;74(4):315-320.

	ATP III	OMS	AACE	IDF
Triglicéridos mayor o igual a 150 mg/dL	X	X	X	X
HDL menor de 40 mg/dL en varones y 50 mg/dL en mujeres	X	X	X	X
Presión arterial mayor de 130/85 mmHg	X	X	X	X
Insulino resistencia (IR)		X		
Glucosa en ayunas mayor de 100 mg/dL	X		X	X
Glucosa 2 h: 140 mg/dL			X	
Obesidad abdominal	X			X
Índice de masa corporal elevado		X	X	
Microalbuminuria		X		
Factores de riesgo y diagnóstico	3 más IR	Más de 2	Criterio clínico	Obesidad abdominal

En nens i adolescents, els més validats són els criteris de la International Diabetes Federation (IDF) que s'estableixen, en nens entre 10 i 16 anys (Taula 2).

Taula 2. Criteris diagnòstics de la síndrome metabòlica en adolescents. Definicions segons la International Diabetes Federation 2007 (IDF). Güeme-Hidalgo M., Muñoz-Calvo M.I. *Pediatría Integral* 2015; XIX (6):428-435.

	6-<10 años	10-16 años	>16 años
Perímetro de cintura	≥P90	≥P90	≥90cm en varones ≥80cm en mujeres
Tensión arterial	SD para SM	TAS ≥130 mmHg TAD ≥85 mmHg	TAS ≥130 mmHg TAD ≥85 mmHg
Triglicéridos	SD para SM	≥150 mg/dl	≥150 mg/dl
C-HDL	SD para SM	≤40 mg/dl	≤40 mg/dl
ATG	SD para SM	≥100 mg/dl	≥100 mg/dl

SD: Sin definición; TA= tensión arterial; C-HDL= lipoproteínas de alta densidad; ATG: alteración de la glucemia en ayunas.

1.2 SISTEMA IMMUNITARI

Durant els últims anys, els investigadors han evidenciat que el sistema immunològic està íntimament relacionat amb la regulació metabòlica i el control de pes. Inicialment es va determinar que el procés d'inflamació crònica que es produïa en l'obesitat era el responsable de l'activació secundària del sistema immunitari. No obstant això, els darrers estudis apunten a l'existència d'una relació i/o interacció bilateral entre el sistema immunitari i el metabolisme.⁸⁹

El sistema immunitari està format per una col·lecció de cèl·lules i proteïnes que tenen com a funció protegir l'organisme de la invasió d'antígens estranys com ara microbis (organismes com els bacteris, els fongs i els paràsits), virus, cèl·lules canceroses i toxines.

El sistema immunitari pot ser descrit de manera simple, dividint-lo en dues "línies de defensa": la immunitat innata i la immunitat adquirida.

La immunitat innata representa la primera línia de defensa per a un patògen intrús. És un mecanisme de defensa independent de l'antigen (no específic) que és utilitzat per l'amfitrió de manera immediata al contacte o dins de les primeres hores de la trobada. La resposta de la immunitat innata no té memòria immunològica i, per tant, és incapaç de reconèixer o "memoritzar" el mateix patògen en cas que el cos s'hi torni a exposar en un futur.

La immunitat adquirida, d'altra banda, és dependent i específica d'antigen i, per tant, implica un temps de retard entre l'exposició a l'antigen i la resposta màxima. El segell distintiu de la immunitat adquirida és la capacitat de memòria que permet a l'amfitrió una resposta immunitari més ràpida i eficaç en cas de tornar-se a exposar al mateix antigen.

La immunitat innata i adquirida no són mecanismes mútuament excloents de la defensa de l'hoste, sinó que són complementaris⁹⁰⁻⁹⁴.

1.2.1 IMMUNITAT INNATA

Els éssers humans estem exposats diàriament a milions de potencials patògens, amb els que entrem en contacte a través de la pell, del sistema digestiu o de la inhalació. La nostra capacitat per evitar la infecció depèn, en gran part, de la nostra immunitat adquirida però aquesta resposta pot retardar-se una setmana abans d'obtenir un resultat eficaç. Per tant, durant les primeres hores i dies de l'exposició a un nou patògen, és la nostra immunitat innata la que ens protegeix i, a més a més, ens ajuda a activar la immunitat adquirida⁹⁵.

La funció principal de la immunitat innata és el reclutament de cèl·lules immunitàries a llocs d'infecció i inflamació a través de la producció de citoquines (proteïnes implicades en la comunicació cèl·lula-cèl·lula). La producció de citoquines condueix a l'alliberament dels anticossos i altres proteïnes i glicoproteïnes que activen el sistema del complement, una cascada bioquímica que funciona per identificar i opsonitzar antigens estranys (procés pel qual es marca un agent patògen per a la seva posterior ingestió i destrucció per un fagòcit). D'aquesta manera, els antigens esdevenen susceptibles a la fagocitosi.

La resposta immunitària innata també promou l'eliminació de les cèl·lules mortes o complexos d'anticossos i elimina substàncies estranyes presents en òrgans, teixits, sang i limfa. També pot activar la resposta immunitària adquirida a través d'un procés conegut com la presentació d'antígens⁹⁰⁻⁹⁴.

Nombroses cèl·lules estan implicades en la resposta immunitària innata, com ara fagòcits (macròfags i neutròfils), cèl·lules dendrítiques, mastòcits, basòfils, eosinòfils, cèl·lules assassines naturals (NK) i limfòcits (cèl·lules T).

Els fagòcits se subdivideixen en dos tipus principals de cèl·lules: neutròfils i macròfags. Tots dos tipus de cèl·lules comparteixen una funció similar que és la de fagocitar i destruir els microorganismes. A més de les seves propietats fagocítiques, els neutròfils contenen grànuls que, quan s'alliberen, ajuden a l'eliminació de patògens. A diferència dels neutròfils (que són cèl·lules de curta durada), els macròfags són cèl·lules de llarga vida que no només juguen un paper en la fagocitosi, sinó que també estan involucrats en la presentació d'antígens a les cèl·lules T. Els macròfags reben diferents noms segons el teixit en el qual resideixen. Per exemple, els macròfags presents en el fetge es denominen cèl·lules de Kupffer, mentre que els presents en el teixit connectiu són anomenats histiòcits.







Les cèl·lules dendrítiques també fagociten i funcionen com a cèl·lules presentadores d'antigen (APCs) i actuen com a missatgers importants entre la immunitat innata i adquirida.

Els mastòcits i basòfils comparteixen moltes característiques, i tots dos són bàsics en la iniciació de les respostes inflamatòries agudes, com les que s'observen en l'al·lèrgia i l'asma. A diferència dels mastòcits, que generalment resideixen en el teixit connectiu que envolta els vasos sanguinis, els basòfils els trobem en la circulació.

Els eosinòfils són granulòcits que posseeixen propietats fagocítiques i juguen un paper important en la destrucció dels paràsits que són massa grans com per ser fagocitats. Juntament amb els mastòcits i basòfils, els eosinòfils, també controlen els mecanismes associats amb l'al·lèrgia i l'asma.

Les cèl·lules NK (també conegudes com a limfòcits granulars grans [LGLs]) tenen un paper important en el rebuig de tumors i en la destrucció de les cèl·lules infectades per virus. La destrucció de les cèl·lules infectades s'aconsegueix a través de l'alliberament de perforines i enzims a partir de grànuls de cèl·lules NK que indueixen apoptosi (mort cel·lular programada)⁹⁴.

Les principals característiques i funcions de les cèl·lules implicades en la resposta immunitari innata es resumeixen a la Figura 11.

Cell	Image	% in adults	Nucleus	Functions	Lifetime	Main targets
Macrophage*		Varies	Varies	<ul style="list-style-type: none"> Phagocytosis Antigen presentation to T cells 	Months – years	<ul style="list-style-type: none"> Various
Neutrophil		40-75%	Multi-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Phagocytosis Degranulation (discharge of contents of a cell) 	6 hours – few days	<ul style="list-style-type: none"> Bacteria Fungi
Eosinophil		1-6%	Bi-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Degranulation Release of enzymes, growth factors, cytokines 	8-12 days (circulate for 4-5 hours)	<ul style="list-style-type: none"> Parasites Various allergic tissues
Basophil		< 1%	Bi- or tri-lobed	<ul style="list-style-type: none"> Degranulation Release of histamine, enzymes, cytokines 	Lifetime uncertain; likely a few hours – few days	<ul style="list-style-type: none"> Various allergic tissues
Lymphocytes (T cells)		20-40%	Deeply staining, eccentric	<ul style="list-style-type: none"> T helper (Th) cells (CD4+): immune response mediators Cytotoxic T cells (CD8+): cell destruction 	Weeks to years	<ul style="list-style-type: none"> Th cells: intracellular bacteria Cytotoxic T cells: virus infected and tumour cells Natural killer cells: virus-infected and tumour cells
Monocyte		2-6%	Kidney shaped	Differentiate into macrophages and dendritic cells to elicit an immune response	Hours – days	<ul style="list-style-type: none"> Various

*Characteristics and function of cells involved in innate immunity [1,3,4]. *Dust cells (within pulmonary alveolus), histiocytes (connective tissue), Kupffer cells (liver), microglial cells (neural tissue), epithelioid cells (granulomas), osteoclasts (bone), mesangial cells (kidney)

Figura 11. Característiques i funció de les cèl·lules involucrades en la immunitat innata.
Adaptat de Warrington R. et al. Allergy, Asthma & Clinical Immunology 2011;7(Suppl 1):S1.

A grans trets, la immunitat innata comprèn quatre tipus de barreres defensives: anatòmica (pell i mucoses), fisiològiques (temperatura, pH baix i mediadors químics), endocítica i fagocítica, i inflamatòria.

La Taula 3 resumeix els mecanismes de defensa de l'hoste no específics per a cadascuna d'aquestes barreres.

Taula 3. Resum dels mecanismes de defensa de l'hoste no específics.Adaptat de Warrington R. et al. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 2011;7(Suppl 1):S1.

Barrier	Mechanism
Anatomic	
Skin	<ul style="list-style-type: none"> • Mechanical barrier retards entry of microbes • Acidic environment (pH 3-5) retards growth of microbes
Mucous membrane	<ul style="list-style-type: none"> • Normal flora compete with microbes for attachment sites • Mucous entraps foreign microbes • Cilia propel microbes out of body
Physiologic	
Temperature	• Body temperature/fever response inhibits growth of some pathogens
Low pH	• Acidic pH of stomach kills most undigested microbes
Chemical mediators	<ul style="list-style-type: none"> • Lysozyme cleaves bacterial cell wall • Interferon induces antiviral defenses in uninfected cells • Complement lyses microbes or facilitates phagocytosis
Phagocytic/endocytic barriers	
	<ul style="list-style-type: none"> • Various cells internalize (endocytosis) and break down foreign macromolecules • Specialized cells (blood monocytes, neutrophils, tissue macrophages) internalize (phagocytose), kill and digest whole organisms
Inflammatory barriers	
	• Tissue damage and infection induce leakage of vascular fluid containing serum protein with antibacterial activity, leading to influx of phagocytic cells into the affected area

Les barreres físiques i químiques són les que impedeixen l'accés dels microorganismes al nostre cos: la pell, l'acidesa del pH de l'estómac, els components de les capes de mucoses i la flora habitual del nostre cos.

La pell i les superfícies epitelials que recobreixen els tractes respiratoris, intestinals i urinaris proporcionen una barrera física entre l'interior i l'exterior del cos que evita l'entrada de microorganismes. Aquestes superfícies epitelials internes, també estan recobertes d'una capa mucosa (constituïda bàsicament per mucina i altres glicoproteïnes) que fa de protecció contra agressions microbianes (evitant l'adhesió del patogen a l'epiteli i facilitant el seu aclariment a través dels cilis), mecàniques i químiques. Aquesta capa mucosa, conté a més a més substàncies que són capaces d'eliminar els patògens o inhibir-ne la seva proliferació. Entre les més abundants trobem els pèptids antimicrobians, també anomenats defensines i la BPI (bacterial/permeability-increasing protein).

1.2.1.1 *α-defensines*

Com ja hem comentat, els animals estan constantment exposats a molts microorganismes i no obstant això, rarament s'infecten. Això és gràcies a la funció que fa la barrera de la pell i els epitelis (que eviten l'entrada dels microorganismes) i a la presència de substàncies antimicrobianes. Durant els darrers anys, s'ha començat a conèixer el paper d'aquestes substàncies antimicrobianes naturals.

Els pèptids antimicrobians endògens, constituïts per les defensines i les catelecidines, són molècules petites, produïdes fonamentalment pels leucòcits i per les cèl·lules epitelials que posseeixen un rang ampli d'acció davant d'una gran varietat de microorganismes⁹⁶.

Les defensines es van descriure per primera vegada en el 1983⁹⁷, però cada cop es publiquen més estudis que descriuen els múltiples i complexes mecanismes a través dels quals actuen aquestes molècules.

1.2.1.1.1 Característiques generals de les α -defensines

Les defensines són molècules efectores de la immunitat innata constituïdes per pèptids de petita mida (3-6 kDa) que són altament bàsics i rics en cisteïna. Són produïdes pels leucòcits i per les cèl·lules epitelials⁹⁶⁻⁹⁸. Tenen una activitat antimicrobiana d'ampli espectre que engloba bacteries, fongs i virus (inclòs el VIH)^{99,100} i a més a més, poden neutralitzar toxines^{101,102}. Són molècules que es troben presents en tots els organismes vertebrats. S'han trobat molècules equivalents en invertebrats i fins i tot en plantes¹⁰³(Figura 12).

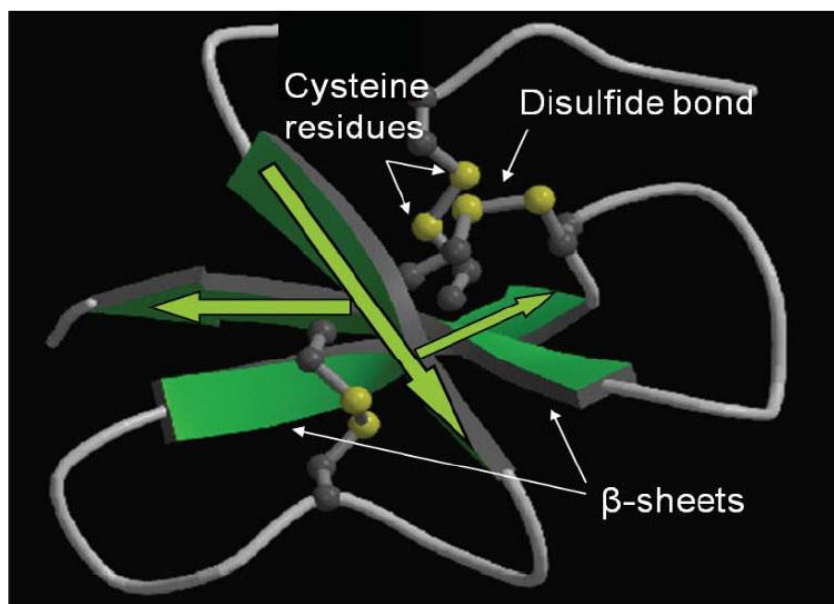


Figura 12. Estructura terciària representativa de les α i β -defensines. Font: Rodríguez M. Tesis: "Defensinas: molècules de la immunitat innata con actividad frente a la infección por VIH y su progresión a SIDA". UAB 2006.

1.2.1.1.2 Classificació i estructura de les α -defensines

En els humans, es diferencien dues grans subfamílies de defensines: les α -defensines i les β -defensines.

Els pèptids madurs dels diferents tipus de defensines comparteixen diverses característiques, incloent-hi seqüències polipeptídiques curtes (de 18 a 45 aminoàcids), tres ponts disulfur intramoleculars, una gran

càrrega positiva i una estructura terciària en la qual predomina el plegament β . La base de l'estructura terciària de les α - i β -defensines consisteix en tres fulles antiparal·leles, en plegament β , unides per tres ponts disulfur¹⁰⁴⁻¹⁰⁹.

Les α -defensines i les β -defensines es diferencien entre elles per l'aparellament dels seus sis residus de cisteïna conservats, entre els quals es formen els tres ponts disulfur intramoleculars. Les α -defensines tenen un aparellament entre els residus 1-6, 2-4, 3-5 i les β -defensines entre els residus 1-5, 2-4, 3-6. Donat que les cisteïnes 5 i 6 són adjacents, les dues famílies són molt similars estructuralment^{104,110,111}.

En solució, la majoria de les α i β -defensines són monomèriques, tot i que la α -defensina-1 (DEFA1) i la α -defensina-3 (DEFA3) formen dímers i la α -defensina-2 (DEFA2) pot formar oligòmers.

1.2.1.1.3 Estructura genòmica de les α -defensines

Totes les defensines es sintetitzen com a prepropèptids i són processades en diferents graus segons el seu lloc d'expressió^{96,97}. Els gens que codifiquen les defensines es localitzen en el cromosoma 8¹¹².

El gen de la DEFA1 i el de la DEFA3 són pràcticament idèntics, excepte per un canvi puntual d'una base nitrogenada en el genoma que dóna lloc a la substitució del primer residu aminoacídic d'alanina en la DEFA1 per àcid aspàrtic en la DEFA3. El gen per la DEFA2 no s'ha trobat, així doncs, es postula que aquesta es generi a partir de la DEFA1 o 3 a través d'un processament proteolític (Figura 13).

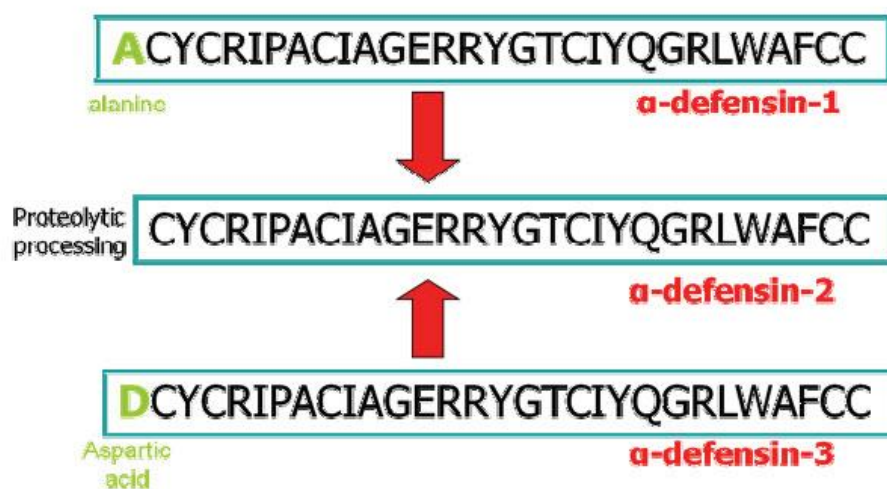


Figura 13. Esquema de les α -defensines 1, 2 i 3.
Adaptat de Namba A.M. J. Braz. Chem. Soc. 2007; 18(3):611-621.

1.2.1.1.4 Fonts cel·lulars i estructura dels teixits

Els leucòcits i les cèl·lules epitelials són les principals fonts de defensines^{96,113}. Tot i que s'han descrit 6 tipus diferents de les α -defensines, les α -defensines 1,2,3 i 4 són les que es troben sobretot en els neutròfils (motiu pel qual també s'anomenen HNP, *human neutrophil peptides*)¹¹⁴.

Encara que els neutròfils són la font principal de producció de les α -defensines 1, 2 i 3, s'ha descrit que altres subtipus de leucòcits també poden produir-les (monòcits, macròfags, cèl·lules NK, cèl·lules B o cèl·lules T). Les α -defensines 5 i 6 són produïdes sobretot per les cèl·lules de Paneth de l'intestí¹¹⁵, tot i que també es poden trobar en altres teixits, com en les glàndules salivals o el tracte genital femení^{116, 117}.

A més a més, tan les α -defensines com les β -defensines s'han trobat també en la llet materna, indicant un possible paper protector del nadó davant les infeccions (Figura 14).

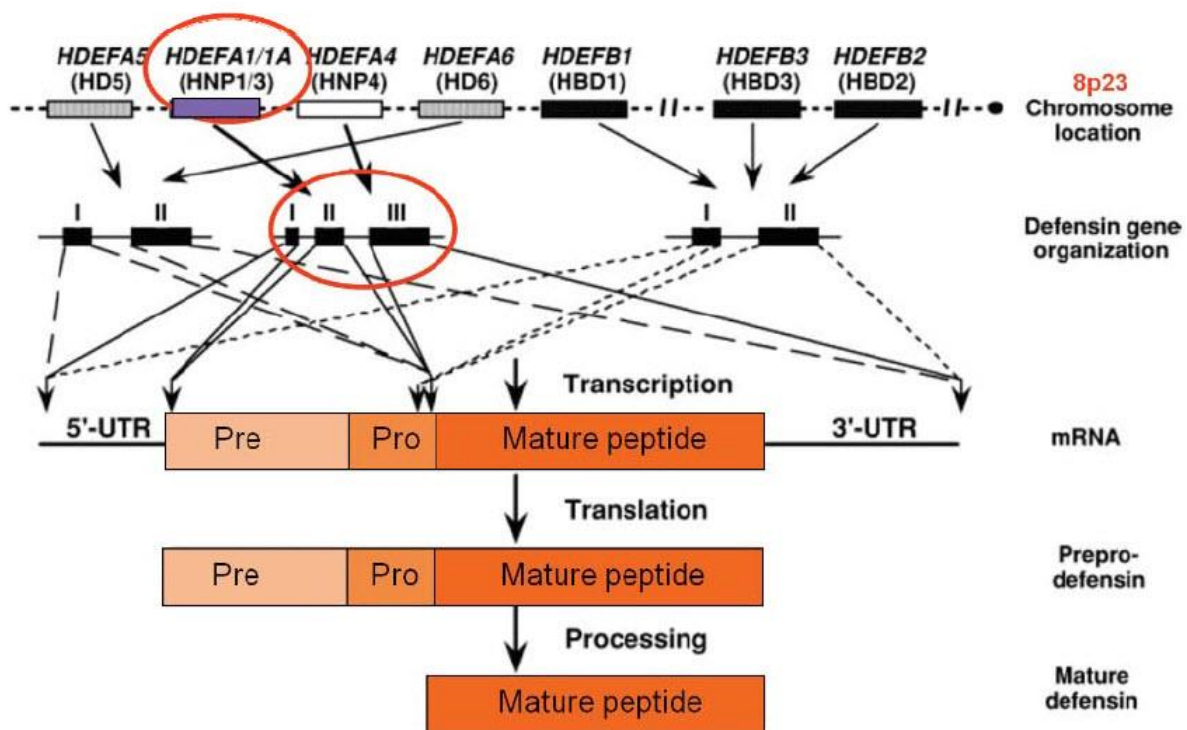


Figura 14. Localització, transcripció i traducció de les defensines.
Adaptat de Yang et al, Annu Rev Immunol. 2004;22:81-215.

1.2.1.1.5 Molècules efectores i reguladores de la immunitat

Les defensines tenen múltiples funcions defensives^{96,97,99,118} que es poden dividir en quatre apartats:

A) Efecte antimicrobià directe:

Totes les defensines trobades fins ara tenen un efecte antimicrobià directe. S'ha demostrat la seva capacitat per destruir (*in vitro*) un ampli rang de bacteries gram positives i gram negatives, virus (amb o sense embolcall), fongs i alguns paràsits (sobretot quan les defensines es troben en condicions de baixa concentració de sal i de proteïnes plasmàtiques). Es desconeixen però, el o els mecanismes pels quals poden desenvolupar aquesta activitat microbicida.

Se sap que les defensines són molècules de càrrega positiva i tenen dominis hidrofòbics o amfipàtics. Una possibilitat és que utilitzin els seus dominis hidrofòbics o amfipàtics per inserir-los en la superfície de la membrana de les seves víctimes, alterant d'aquesta manera la integritat de les membranes dels patògens^{119,120}. Gran part de la seva selectivitat per atacar els patògens i respectar la cèl·lula hoste pot provenir de la seva preferència per les membranes que no contenen colesterol. Així doncs, després de trencar la membrana del patogen, els pèptids carregats positivament (com les defensines) poden interactuar també amb diversos objectius carregats negativament dins del microorganisme, incloent-hi l'ADN. Degut a la naturalesa poc específica de la interacció entre pèptids antimicrobians (defensines) i els microorganismes patògens atacats, és difícil per als agents patògens adquirir resistència a ells.

Per tant, en principi, defensines i altres pèptids antimicrobians podrien ser agents terapèutics útils per combatre la infecció, ja sigui sols o en combinació amb fàrmacs més tradicionals.

L'activitat antimicrobiana directa de les defensines desapareix en concentracions fisiològiques de sal (ex. 150 mM de NaCl) i en concentracions creixents de cations divalents i de les proteïnes del sèrum. Per això s'ha especulat que la seva funció pot estar restringida a ambients amb baixes quantitats de sal i proteïnes sèriques com la superfície de les mucoses⁹⁶.

B) Defensines com a agents quimiotàctics:

Algunes α -defensines i β -defensines tenen activitat quimiotàctica i són capaces d'induir la producció de citoquines. Per tant, les defensines també poden modular el sistema immunitari.

Com ja hem comentat, les defensines són quimiotàctiques per als leucòcits a concentracions nanomolars. La DEFA1 és quimiotàctica per als monòcits, limfòcits CD8, limfòcits CD4 nadius i cèl·lules dendrítiques immadures¹²¹⁻¹²³. Les DEFA3 i 5 també han demostrat ser quimiotàctiques per a macròfags, cèl·lules mastoïdes i limfòcits.

Tot i que encara no s'han identificat els receptors específics responsables de l'activitat quimiotàctica de les DEFA1 i 3, s'ha vist que l'activitat quimiotàctica pot ser bloquejada per la toxina pertúsica^{124,125}, fet que indica que deuen estar involucrats amb receptors acoblats a proteïnes G (proteïnes d'unió a nucleòtids de guanosina que formen una família de proteïnes que transmeten el senyal cel·lular des de receptors cel·lulars a l'interior de la cèl·lula).

C) Defensines com a mediadors inflamatoris:

Les DEFA1 i 3 han demostrat capacitat per induir la desgranulació de mastòcits i l'alliberació d'histamina i prostaglandina D₂⁹⁶. També incrementen la producció d'IL-8 en cèl·lules epitelials bronquials i en monòcits¹²⁴.

Donat que la IL-8 és un potent agent quimiotàctic per als neutròfils, és molt probable que les defensines (de manera indirecta) atreguin als neutròfils cap als focus inflamatoris. La degranulació dels neutròfils produirà a la vegada més DEFA1 i 3, amb la qual cosa, es pot produir un cicle de retroalimentació positiva⁹⁶.

Per altra banda, també s'ha descrit que les DEFA1 i 3 poden incrementar la producció de TNF- α i IL-1 i disminuir la producció d'IL-10 en els monòcits¹²⁶.

D) Molècules potenciadores de la immunitat adquirida

El reclutament de les cèl·lules dendrítiques cap a les zones d'entrada dels microorganismes i la seva posterior maduració són esdeveniments claus per aconseguir una bona resposta immunitària adquirida. Les DEFA1 i 3 tenen la capacitat d'atraure cèl·lules dendrítiques immadures.

Donat que les defensines s'alliberen en grans quantitats com a resposta a estímuls inflamatoris i microbians, és molt possible que contribueixin també al reclutament de cèl·lules dendrítiques immadures cap a les zones d'entrada dels microorganismes.

1.2.1.1.6 *Relació de les α -defensines amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular*

Es coneix, que, durant la progressió de l'obesitat, moltes citoquines regulen la derivació de neutròfils cap al teixit adipós¹²⁷. En el teixit adipós, els neutròfils, poden estimular la secreció de citoquines proinflamatòries i també secretar directament proteïnes a la circulació com les α -defensines^{128,129}. De fet, es postula que els neutròfils són les primeres cèl·lules del sistema immunitari a infiltrar el teixit adipós visceral durant l'obesitat i a iniciar el procés inflamatori del teixit adipós¹³⁰.

En la literatura, s'han descrit associacions entre els nivells circulants de les α -defensines i paràmetres de risc cardiovascular i de síndrome metabòlica en adults. Tot i això, es desconeix la relació de les defensines amb el risc d'obesitat i de malaltia cardiovascular en etapes precoces de la vida.

Diversos estudis correlacionen els nivells de les α -defensines amb l'aparició d'obesitat^{131,132}, dislipèmia^{132,133}, diabetis^{134,135}, aterosclerosi^{132,136} i amb pacients amb malaltia cardiovascular de base^{137,138}, i en tots els casos la postulen com un factor d'estudi pronòstic de risc cardiovascular.

Estudis de les α -defensines i l'obesitat:

En la població adulta, hi ha diferents publicacions que correlacionen els nivells de les α -defensines amb la obesitat. Alguns estudis més generals, descriuen una associació positiva entre l'increment del nombre dels neutròfils i el perímetre abdominal¹³⁹. D'altres més específics, correlacionen directament els nivells de les α -defensines amb la obesitat. En un d'ells, realitzat en dones obeses, sotmeses a cirurgia i a les que es va realitzar un control evolutiu de la pèrdua de pes, es va comprovar que la pèrdua de pes es correlacionava directament amb una disminució del nivell pertinent de les α -defensines¹³¹.

Estudis de les α -defensines i les dislipèmies:

En la literatura, també hi ha publicacions que correlacionen els nivells de les α -defensines amb la dislipèmia. En treballs experimentals realitzats amb ratolins en què s'estudiava un grup de ratolins alimentats amb una dieta rica en greixos i es comparava amb un altre grup alimentat amb dieta normal, es va objectivar que la proporció de neutròfils en el teixit adipós visceral del grup dels ratolins alimentats amb dieta rica en greixos s'incrementava ja des del tercer dia d'inici de l'alimentació^{140,141}.

En aquesta mateixa línia, i partint d'estudis realitzats en pacients adults amb hiperlipidèmia constatada en els que es van determinar els nivells de les α -defensines en sèrum, es va evidenciar un increment dels nivells de les α -defensines en el grup de pacients afectes de dislipèmia respecte al grup de pacients control. Aquests treballs conclouen que l'augment de l'expressió de les α -defensines és un marcador inflamatori potencial que pot predir el risc de desenvolupar malaltia coronària en el grup de pacients afectes de dislipèmia^{133,136}.

Estudis de les α -defensines i la diabetis:

Trobem també evidència d'una clara correlació entre els nivells de les α -defensines i la diabetis. Els nivells de les α -defensines 1-3 s'han trobat més elevats en pacients amb diabetis (tipus 1 i tipus 2) en comparació amb pacients sans¹³⁴. A més a més, si ens fixem concretament en els pacients afectes de diabetis mellitus tipus 1, hi ha treballs que evidencien que les α -defensines poden servir com a marcador de risc clínic per a la morbiditat relacionada amb malalties cardiovasculars i amb la mortalitat associada a aquest grup de pacients¹³¹

Estudis de les α -defensines i l'aterosclerosi:

Com ja sabem, l'aterosclerosi és un factor de risc molt important en l'estudi de malalties cardiovasculars. Hi ha diferents publicacions on s'estableix una associació entre els nivells de les α -defensines i l'aterosclerosi.

Es creu que les α -defensines humanes estan associades amb el colesterol sèric i la reactivitat vascular i poden tenir implicacions clíniques en pacients amb hipercolesterolemia o bé en la disfunció vascular¹³⁶. Així doncs, partint de la base de que les lesions ateroscleròtiques humanes contenen α -defensines humanes també s'han publicat estudis on es demostra que les α -defensines alliberades pels neutròfils activats poden proporcionar una relació entre la inflamació i l'aterosclerosi al canviar el patró de catabolisme del colesterol LDL¹⁴². Estudis en ratolins, per exemple, han comprovat que les α -defensines poden modificar la composició i les concentracions de LDL, facilitar la seva interacció i aclariment i promoure la seva disposició a nivell vascular (fins i tot amb nivells plasmàtics baixos de colesterol)^{143,144}.

En aquesta mateix línia, en estudis prospectius de factors de risc cardiovascular en individus sans, també s'han trobat correlacions entre els nivells de les α -defensines 1-3 i el colesterol sèric i la reactivitat vascular, pel que es postula que poden tenir implicacions clíniques en pacients amb hipercolesterolemia i/o en la disfunció vascular¹³⁶.

Amb tot això, es creu que les α -defensines poden esdevenir una peça vital, com a factor pronòstic, per valorar els pacients de risc cardiovascular que presenten inflamació però encara no han desenvolupat aterosclerosi¹⁴⁴.

Estudis de les α -defensines i la patologia vascular de base:

En estudis en pacients amb patologia vascular de base, amb malaltia arterial perifèrica¹³⁷ o amb malaltia coronària¹³⁸, s'ha hipotitzat que les α -defensines podrien actuar com a pronòstic cardiovascular a llarg termini.

Tots aquests resultats, ens informen que, a part del seu paper en la immunitat innata, les α -defensines estan relacionades amb l'obesitat, la diabetis tipus 2 i els risc cardiovascular en adults. Segons el nostre coneixement no hi ha estudis al respecte en nens. La nostra hipòtesi és que les defensines poden ser nous marcadors d'obesitat i de risc cardiovascular en nens.

1.2.1.2 Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI)

La bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) és una proteïna que es troba en els grànuls de les cèl·lules polimorfonuclears (PMN) de mamífers, una cèl·lula essencial en la defensa contra els microorganismes invasors.

1.2.1.2.1 *Característiques generals de la BPI*

La BPI humana és una proteïna de 55-kDa que va ser aïllada dels neutròfils polimorfonuclears per primer cop l'any 1978 (Weiss et al)¹⁴⁵, però no ha estat fins 20 anys més tard, en què se n'ha estudiat l'estructura completa¹⁴⁶. La BPI, s'emmagatzemen en els grànuls citoplasmàtics dels PMN conjuntament amb les defensines (1-4), la proteinasa 3 i l'azurocidina. Durant els darrers anys s'ha vist que la BPI té un efecte bactericida i que és altament específica per a bacteris gram negatius, mentre que és innòcua davant d'altres microorganismes o per a les cèl·lules eucariotes.

1.2.1.2.2 *Estructura genòmica de la BPI*

El gen de la BPI es localitza en el cromosoma 20 i està constituït per 15 exons de grandària variable entre 43pb (exó 12) fins a 358 pb (exó 15) amb 14 introns que varien en grandària de 0,6 kb (intró 8) a 6,6 kb (intró 5)¹⁴⁷.

La seqüenciació de BPI revela que es tracta d'una proteïna amb un extrem bàsic (hidròfob N-terminal) i un altre extrem àcid (hidròfil C-terminal) (Figura 15).

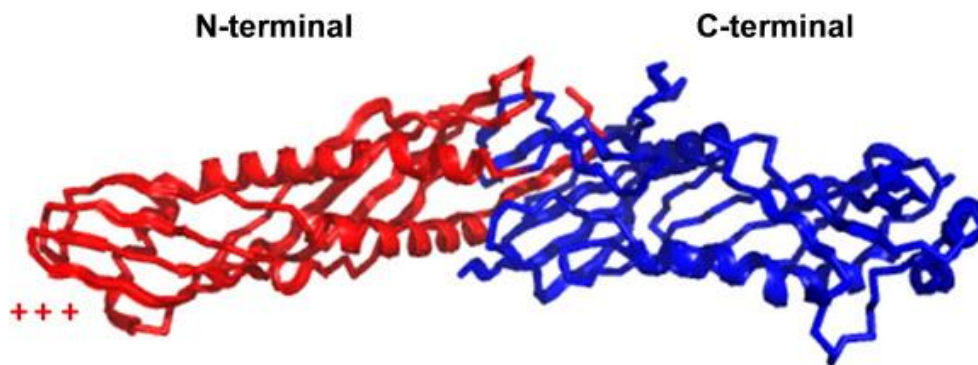


Figura 15. Imatge de l'estructura de la BPI.
Adaptat de Weitz A. *International Journal of Antimicrobial Agents* 2013; 2: 571-574.

1.2.1.2.3 *Fonts cel·lulars i distribució en els teixits*

Com ja hem comentat, la BPI s'emmagatzemen sobretot en els grànuls citoplasmàtics dels PMNs conjuntament amb les defensines (1-4), la proteinasa 3 i l'azurocidina. Es postula, que pot estar unit a la membrana dels grànuls azuròfils i a la membrana cel·lular dels neutròfils (PMNs) per mitjà del seu extrem C-terminal hidròfob^{148,149}.

Tot i així, la BPI, també s'ha aïllat en els grànuls dels eosinòfils humans¹⁵³, en la superfície de monòcits de sang perifèrica¹⁵⁰, en les cèl·lules epitelials de les mucoses del colon¹⁵¹ i en els fibroblasts de la dermis¹⁵², però en quantitats inferiors. Cal tenir en compte però, que l'expressió de la BPI en les cèl·lules epitelials només s'ha detectat després de l'estimulació amb estímuls inflamatoris^{151,152}.

1.2.1.2.4 *Molècules efectores i reguladores de la immunitat*

El mecanisme precís pel qual la BPI actua com a molècula bactericida és encara desconegut, però es coneix que s'ha d'adjuntar a la superfície dels bacteris gram negatius per ser activa. S'ha descrit que la BPI pot actuar davant els bacteris gramnegatius, mitjançant tres vies: en primer lloc, pot ser citotòxica directament a través dels seus efectes sobre les membranes bacterianes¹⁵⁴, en segon lloc, actua com una opsonina per millorar la fagocitosi de neutròfils, i en tercer lloc, pot neutralitzar liposacàrids (LPS) bacterians^{155,156}. A més a més, es coneix, que aquests efectes citotòxics de la BPI sobre els bacteris gram negatius són reforçats sinèrgicament per l'actuació dels membres de la família de les defensines¹⁵⁶.

Cal recordar que els LPS s'han denominat també com "endotoxines", donada la potent resposta inflamatòria que generen. Els LPS indueixen, en l'hoste, l'alliberament de cèl·lules mediadores inflamatòries que fins i tot poden conduir, en últim extrem, a un xoc endotòxic irreversible. Se sap que la BPI s'uneix al lípid A, el component més tòxic i biològicament més actiu dels LPS (Figura 16).

Així doncs, es creu que la unió de la BPI als LPS, condueix a l'activació d'enzims bacterians que són els responsables de degradar fosfolípids i peptidoglicans i alterar la permeabilitat de la membrana externa de la cèl·lula, i en última instància provocar la mort cel·lular per un mecanisme encara desconegut.

Per tant, la BPI és coneguda sobretot per la neutralització que fa a nivell de la l'endotoxina o dels lipopolisacàrids de la superfície dels bacteris gram-negatius¹⁵⁷.

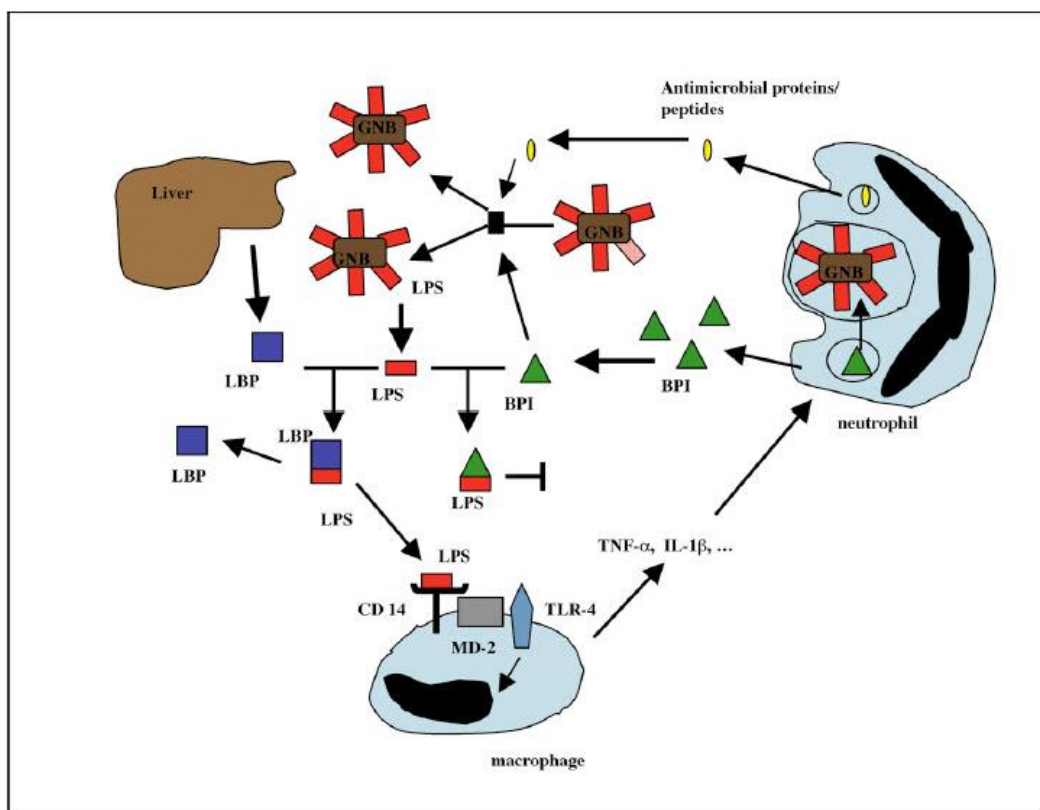


Figura 16. Relació de BPI i LPS.
Adaptat de Levy O. Blood 2000; 96:2664-72.

També s'han descrit que la proteïna BPI és un antigen diana per la formació d'autoanticossos anticitoplasmàtics dels neutròfils (ANCA). La presència d'anticossos anti-BPI (BPI-ANCA) s'ha descrit en pacients amb granulomatosis de Wegener i també amb pacients amb malalties inflamatòries intestinals (com la colitis ulcerosa) i en la fibrosi quística.

Així doncs, la presència d'aquests anticossos (BPI-ANCA) pot empitjorar el procés d'inflamació donat que es redueix la capacitat natural que té la BPI per destruir i neutralitzar els bacteris gram-negatius. La presència de BPI-ANCA s'ha associat a un increment de l'activitat inflamatòria i a un major dany dels òrgans¹⁵⁸.

1.2.1.2.5 Relació de la BPI amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular

Tot i que la BPI ha sigut àmpliament estudiada pel seu paper immunològic bactericida, en els darrers anys també s'han publicat associacions entre els nivells circulants de BPI i paràmetres de risc cardiovascular i de síndrome metabòlica en adults. Tot i això, es desconeix la relació de la BPI amb el risc d'obesitat i de malaltia cardiovascular en etapes precoces de la vida.

Diversos estudis correlacionen els nivells de BPI amb el transport de lípids¹⁵⁹, la sensibilitat a la insulina i la tolerància a la glucosa^{160,161}, la malaltia coronària¹⁶² i amb l'angiogènesi¹⁶³.

BPI i metabolisme dels lípids

Com ja hem comentat, la BPI té llocs d'unió a lípids i per tant, pot actuar com a proteïna transportadora de lípids. S'han publicat estudis que correlacionen els nivells plasmàtics de la BPI amb nivells de CT, colesterol HDL i LDL¹⁵⁹. D'altres els correlacionen amb factors de risc cardiovascular (envelliment, obesitat, diabetis i malalties coronàries)¹³².

En subjectes amb tolerància normal a la glucosa en què es van avaluar els nivells en sèrum de BPI i es van correlacionar amb el metabolisme dels lípids (CT, colesterol HDL i colesterol LDL) i amb la reactivitat vascular braquial (a partir d'ecografia d'alta resolució) es va postular que la BPI podia constituir un biomarcador de metabolisme dels lípids i que podia ajudar a identificar aquells individus amb la funció endotelial conservada¹⁵⁹.

BPI i sensibilitat a la insulina i tolerància a la glucosa

S'han descrit estudis que demostren l'associació entre la BPI amb la sensibilitat a la insulina i amb la tolerància a la glucosa¹⁶⁰. En un treball que va estudiar els nivells de BPI circulants en subjectes amb diferents graus de tolerància a la glucosa es va objectivar que els nivells de BPI circulants en sèrum, tenint en compte l'edat i l'IMC, eren menors en pacients amb DM tipus 2 que en el grup control. Es va objectivar també, que els nivells de BPI circulants es correlacionaven negativament amb la concentració de glucosa i d'insulina en dejú i amb la postcàrrega de glucosa. Així mateix, en pacients amb intolerància a la glucosa també es va

trobar una relació inversa entre els nivells de BPI, l'IMC, la relació cintura-maluc i la sensibilitat a la insulina ajustada per l'IMC i per l'edat. Tots aquests resultats van suggerir que la BPI estava associada a les vies metabòliques¹⁶⁰.

Altres treballs realitzats amb pacient obesos amb DM tipus 2, van trobat també una correlació directa entre la concentració plasmàtica de BPI i la sensibilitat a la insulina i les concentracions de colesterol HDL, i una correlació inversa amb altres paràmetres metabòlics (relació cintura-maluc, perímetre abdominal o TG en dejú)¹⁶¹.

Per tant, els estudis publicats sobre la BPI en relació amb la insulina i la tolerància a la glucosa li donen un efecte protector, trobant-se una correlació negativa entre els nivells de BPI i el nivells de glucosa, d'insulina i de resistència a la insulina.

BPI i malaltia coronària

En treballs realitzats amb pacient afectes de malaltia coronària greu s'ha descrit que la BPI es correlaciona inversament amb la severitat de les alteracions i pot ser un bon biomarcador per a l'estenosi coronària severa¹⁶².

En un estudi realitzat en pacients amb malaltia coronària (total i parcial) comparats amb un grup control, es va objectivar una clara correlació negativa entre els nivells de BPI i la gravetat de l'estenosi ateroscleròtica greu i es va postular que la BPI podria ser un bon biomarcador de la lesió coronària ateroscleròtica en pacients adults¹⁶².

BPI i angiogènesi

La inhibició de l'angiogènesi es considera una eina prometedora en el tractament de l'aterosclerosi. Aquest fet ha conduït a la recerca de nous inhibidors de l'angiogènesi endògena o sintètica. Recentment, es va descobrir que la BPI inhibia l'angiogènesi per inducció específica de l'apoptosi en les cèl·lules endotelials¹⁶³.

Tots aquests resultats, ens informen que, igual que les defensines, a part del seu paper en la immunitat innata, la BPI està relacionada amb l'obesitat, la diabetis tipus 2 i el risc cardiovascular en adults. Segons el nostre coneixement, no hi ha estudis al respecte en nens. La nostra hipòtesi és que la BPI pot ser un nou biomarcador d'obesitat i de risc cardiovascular en nens.

1.2.2 IMMUNITAT ADQUIRIDA

La immunitat adquirida o adaptativa es desenvolupa quan la immunitat innata és ineficaç per eliminar l'agent patogen i s'estableix la infecció. Les funcions principals de la resposta immunitària adquirida són: 1) el reconeixement d'antígens específics "no propis" respecte la presència d'antígens "propis"; 2) la generació de vies efectores immunològiques que eliminen els patògens específics o les cèl·lules infectades per patògens; 3) i el desenvolupament d'una memòria immunològica que pot eliminar ràpidament un patogen específic en cas de produir-se una reinfecció posterior⁹².

Això fa, que a diferència de la resposta immunitària innata, les respostes adaptatives proporcionin una protecció específica i de llarga durada contra el patogen. El sistema immunitari adquirit està compost d'una sèrie de cèl·lules i mecanismes complexos, sovint entrelaçats entre ells que ens permeten dur a terme totes aquestes tasques. Les cèl·lules del sistema immunitari adaptatiu inclouen: a) cèl·lules T, que s'activen a través de l'acció de les cèl·lules presentadores d'antígens (APC), i b) cèl·lules B.

1.2.2.1 Cèl·lules T i APC

Les cèl·lules T deriven de cèl·lules mare hematopoètiques en la medul·la òssia. Un cop formades migren i maduren en el timus. Aquestes cèl·lules expressen en la seva membrana, un receptor únic d'unió a l'antigen, conegut com el receptor de cèl·lules T (TCR), i requereixen de l'acció d'una APC (en general cèl·lules dendrítiques, però també els macròfags, fibroblasts i cèl·lules epitelials) per reconèixer un antigen específic. A les superfícies d'APC s'expressen proteïnes conegudes com el complex principal d'histocompatibilitat (MHC). Aquestes proteïnes de l'MHC es classifiquen com a classe I (també anomenat antigen leucocitari humà [HLA] A, B i C) que es troben en totes les cèl·lules nucleades, o de classe II (també anomenat HLA, DP, DQ i DR) que es troben només en certes cèl·lules del sistema immunitari, incloent-hi macròfags, cèl·lules dendrítiques i cèl·lules B.

En els pèptids endògens (intracel·lulars) trobem les molècules MHC de la classe I, mentre que en els pèptids exògens (extracel·lulars) trobem les molècules de la classe II.

Quan una cèl·lula està infectada per un patogen o bé ha fagocitat proteïnes estranyes, la proteïna MHC mostra fragments d'antígens (pèptids)^{92,93}. Així les cèl·lules T, quan es troben amb un APC que ha degradat un antigen, s'activen i presenten fragments de l'antigen units a les seves molècules MHC. El complex MHC-antigen activa el TCR i la cèl·lula T segrega citoquines que controlen addicionalment la resposta immunitària. (Figura 17).

Aquest procés de presentació d'antígens estimula les cèl·lules T a diferenciar-se en qualsevol de les cèl·lules T-citotòxiques (cèl·lules CD8 +) o T-helper (Th) (cèl·lules CD4 +).

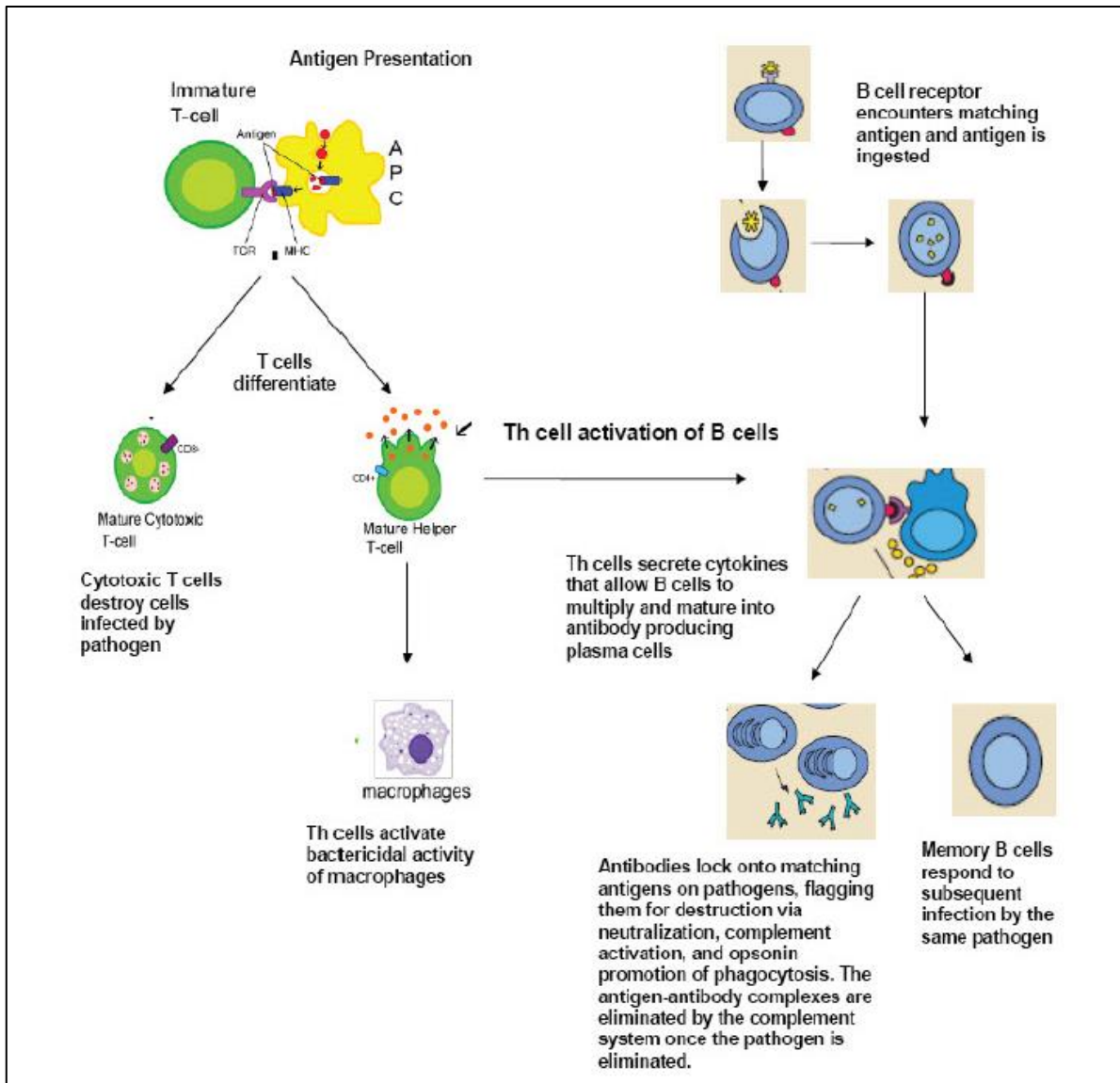


Figura 17. Immunitat adquirida. Activació i funció de cèl·lules T i B.
Adaptat de Warrington R. et al. Allergy, Asthma & Clinical Immunology 2011;7(Suppl 1):S1.

Cèl·lules T citotòxiques

Les cèl·lules T citotòxiques estan implicades principalment en la destrucció de cèl·lules infectades per agents estranys. S'activen per la interacció de la seva TCR amb molècules MHC de classe I unides a pèptids. L'expansió clonal de les cèl·lules T citotòxiques produeix cèl·lules efectores que alliberen perforina i granzima

(proteïnes que provoquen la lisi de les cèl·lules diana) i granulinsina (una substància que indueix a l'apoptosi de les cèl·lules diana).

Un cop resolta la infecció, la majoria de les cèl·lules efectores moren i són eliminades pels fagòcits. No obstant això, algunes d'aquestes cèl·lules es mantenen com a cèl·lules de memòria que es poden diferenciar ràpidament en cèl·lules efectores, en cas de donar-se de nou una altra trobada amb el mateix antigen^{92,93}.

Cèl·lules T helper

Les cèl·lules T helper (Th) juguen un paper important en l'establiment i la maximització de la resposta immunitària. Aquestes cèl·lules no tenen acció citotòxica o activitat fagocítica, i no poden destruir les cèl·lules infectades o els patògens. No obstant això, fan de mediadores de la resposta immunitària dirigint les altres cèl·lules a realitzar aquestes tasques.

Les cèl·lules Th s'activen a través del reconeixement d'antígens TCR units a molècules de classe II del MHC. Un cop activades, les cèl·lules Th alliberen citoquines que influeixen en l'activitat de molts tipus de cèl·lules, incloent-hi les APCs, a les que també activen. Les APC poden induir dos tipus de respostes de les cèl·lules Th: Th1 o Th2. La resposta Th1 es caracteritza per la producció d'interferó-gamma (IFN-g) que estimula les activitats bactericides de macròfags, i altres citoquines. Aquestes, indueixen a les cèl·lules B a produir opsonització (recobriments) i anticossos neutralitzants. La resposta Th2 es caracteritza per l'alliberament de citoquines (interleucina 4, 5 i 13) que estan implicades en l'activació i/o reclutament d'immunoglobulina E (IgE), mastòcits, eosinòfils i en l'activació de les cèl·lules B per produir anticossos.

Els mastòcits i els eosinòfils són instruments bàsics en la iniciació de la resposta inflamatòria aguda, com la que s'observa en l'al·lèrgia i l'asma. Els anticossos IgE també s'associen amb reaccions al·lèrgiques. Per tant, un desequilibri en la producció de citoquines Th2 s'associa amb el desenvolupament de condicions atòpiques (al·lèrgiques).

Igual que les cèl·lules T citotòxiques, la majoria de les cèl·lules Th moriran durant la resolució de la infecció i només algunes d'elles quedaran com a cèl·lules de memòria^{92,93}.

Cèl·lules T reguladores

Un tercer tipus de cèl·lula T és la coneguda com la cèl·lula T reguladora o supressora (T reg) i també juga un paper important en la resposta immunitària. La funció de les cèl·lules T reg és limitar i suprimir el sistema immunològic i, per tant, esdevenen essencials per controlar les respostes immunitàries aberrants als antígens propis i per evitar el desenvolupament de les malalties auto-immunitàries.

1.2.2.2 Cèl·lules B

Les cèl·lules B deriven de les cèl·lules mare hematopoètiques de la medul·la òssia i, un cop madures, deixen la medul·la òssia, expressant un únic receptor d'unió a antigen en la seva membrana.

A diferència de les cèl·lules T, les cèl·lules B poden reconèixer antigens lliures directament, sense la necessitat de APCs. La funció principal de les cèl·lules B és la producció d'anticossos contra antigens estranys^{92,93}. Quan les cèl·lules B s'activen, se sotmeten a una proliferació i es diferencien en cèl·lules plasmàtiques secretores d'anticossos o en cèl·lules de memòria (Figura 17). Les cèl·lules B de memòria són supervivents d'infeccions passades i segueixen expressant receptors d'unió a l'antigen. Aquestes cèl·lules poden ser cridades a respondre amb rapidesa i eliminar un antigen en cas de produir-se una re-exposició.

Per altra banda, les cèl·lules plasmàtiques no expressen els receptors d'unió a antigen. Aquestes són cèl·lules de vida curta que se sotmeten a l'apoptosi quan l'agent d'incitació que indueix la resposta immunitari s'elimina.

Així doncs, les cèl·lules B, juguen un paper molt important en la resposta immunitària humoral o a través d'anticossos, a diferència de la resposta immunitària mediada per cèl·lules, que es regeix principalment per les cèl·lules T^{92,93}.

1.2.2.3 Immunitat humoral i immunitat cel·lular

La immunitat humoral és la branca del sistema immunitari adquirit que està constituïda per les cèl·lules B. La producció dels anticossos (també anomenades immunoglobulines) comença quan els receptors d'unió a antigens de les cèl·lules B reconeixen i s'uneixen a l'antigen en la seva forma nativa. Això atreu la cooperació de les cèl·lules Th que secreten citoquines i ajuden a la multiplicació de les cèl·lules B i a la seva maduració en cèl·lules plasmàtiques secretores d'anticossos. Els anticossos secretats s'uneixen a antigens en la superfície dels patògens, i els destrueixen a través de la neutralització de toxines, l'activació clàssica del complement, l'opsonització i la promoció de la fagocitosis. Després de l'eliminació del patogen, els complexos antigen-anticòs s'eliminen a través la cascada del complement ⁹².

Els anticossos juguen un paper important en la contenció de la proliferació de virus durant la fase aguda de la infecció. Però, un cop s'ha produït la infecció, generalment no són capaços d'eliminar el virus. Un cop establerta una infecció, els mecanismes immunitaris cel·lulars són els més importants per defensar l'hoste.

La immunitat cel·lular no implica la producció d'anticossos, però protegeix l'organisme a través de: 1) l'activació de cèl·lules T citotòxiques específiques contra l'antigen que indueixen l'apoptosi de les cèl·lules que mostren epítops (regions localitzades en la superfície d'un antigen que són capaces de provocar una resposta

immunitària) o que mostren antígens estranys en la seva superfície (cèl·lules infectades per virus, cèl·lules amb bacteris intracel·lulars, i les cèl·lules canceroses que presenten antígens tumorals); 2) l'activació de macròfags i de cèl·lules NK, que els permet destruir els patògens intracel·lulars; 3) l'estimulació de la producció de citoquines que activa la resposta immunitària⁹².

La immunitat cel·lular s'adreça principalment als microorganismes que sobreviuen en els fagòcits, així com a aquells que infecten cèl·lules no fagocítiques. Aquest tipus d'immunitat és més eficaç en l'eliminació de cèl·lules infectades per virus, però també pot participar en la defensa contra infeccions per fongs, protozous, cèl·lules canceroses i bacteris intracel·lulars.

La immunitat mediada per cèl·lules també juga un paper important en el rebuig del trasplantament.




1.2.2.4 Immunoglobulines:

Com hem comentat en l'apartat anterior, les immunoglobulines (també anomenades anticossos) són glicoproteïnes produïdes pels limfòcits B o per les cèl·lules plasmàtiques. Són responsables de la resposta immunitària humoral i actuen protegint l'organisme de diferents microorganismes (bactèries, virus i fongs)¹⁶⁴.

Segons la naturalesa de les seves cadenes pesades, el seu pes molecular, el seu coeficient de sedimentació i el contingut d'hidrats de carboni, es diferencien cinc classes d'immunoglobulines: IgG, IgA, IgE, IgD i IgM. Les principals característiques de cada subtipus es descriuen a la Taula 4. També s'han descrit 2 subclasses d'IgA en funció de les característiques de les seves cadenes pesades (IgA1 i IgA2) i quatre subclasses d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4)^{164,165}.

La principal característica de les immunoglobulines, és que reconeixen i s'uneixen específicament a l'antigen¹⁶⁶. En el nostre organisme, es poden trobar en els líquids biològics (de forma soluble) on actuen neutralitzant i col·laborant en la destrucció d'antígens (actuen com anticossos), o bé unides a la membrana dels limfòcits B on actuen com a receptors d'antígens (forma monomèrica). Les IgG, IgD i IgE se secreten en forma monomèrica, mentre que les IgM i IgA ho fan en forma polimèrica¹⁶⁷.

Taula 4. Principals tipus i característiques de les immunoglobulines. Adaptat per l'autora.

IgA	Es troba en les mucoses del tub digestiu, del tracte respiratori i del tracte urogenital. Impedeix la colonització de patògens. També es pot trobar en el sèrum, la saliva, les llàgrimes i la llet.	
IgD	La seva funció consisteix principalment a fer de receptor d'antígens en els limfòcits B que no han estat exposats als antígens.	
IgE	S'uneix a l'al·lergen i desencadena l'alliberació d'histamina dels mastòcits i dels basòfils. Està implicada en l'al·lèrgia. També protegeix davant dels paràsits.	 <p>Monòmer IgD, IgE, IgG</p>
IgG	Proporciona, amb la seves quatre formes la major part de la protecció immunitària. Forma anticossos contra els patògens invasors. És l'únic anticòs capaç de creuar la placenta i proporcionar immunitat passiva al fetus.	 <p>Dímer IgA</p>
IgM	S'expressa en la superfície dels limfòcits B i en forma secretada en el torrent sanguini. Elimina als patògens en els estadis inicials de la resposta immunitària mediada pels limfòcits B (humoral) fins que existeixen suficients immunoglobulines IgG.	 <p>Pentàmer IgM</p>

1.2.2.4.1 Estructura general de les immunoglobulines

La unitat estructural bàsica de les immunoglobulines consisteix en quatre cadenes polipeptídiques, dues de lleugeres (L) idèntiques (que contenen uns 220 aminoàcids) i dues cadenes pesades (H) idèntiques (que contenen uns 440 aminoàcids) (Figura 18).

Una combinació d'enllaços no covalents i covalents (disulfur) sosté les quatre cadenes juntes. La molècula es compon de dues meitats idèntiques, cadascuna amb el mateix lloc d'unió a l'antigen. Entre les cadenes pesades, a prop dels ponts disulfur, hi ha la regió frontissa, que és flexible i permet que els braços se separin o s'apropin l'un a l'altre.

L'enzim papaïna escindeix la molècula d'immunoglobulina per la seva regió frontissa i forma 3 fragments: un fragment constituït per la meitat aproximada de les dues cadenes H (fragment Fc) i dos fragments formats per una cadena L i aproximadament la meitat d'una cadena H (fragments Fab)^{164,166}. El fragment Fc és el responsable de la unió al receptor Fc que hi ha en algunes cèl·lules. El fragment Fab és on es troba la regió d'unió a l'antigen. La seqüència d'aminoàcids en el fragment Fab és variable i les alteracions d'aquesta seqüència determinen l'especificitat d'un anticòs a un antigen específic. La major part de la seqüència del fragment Fc és constant.

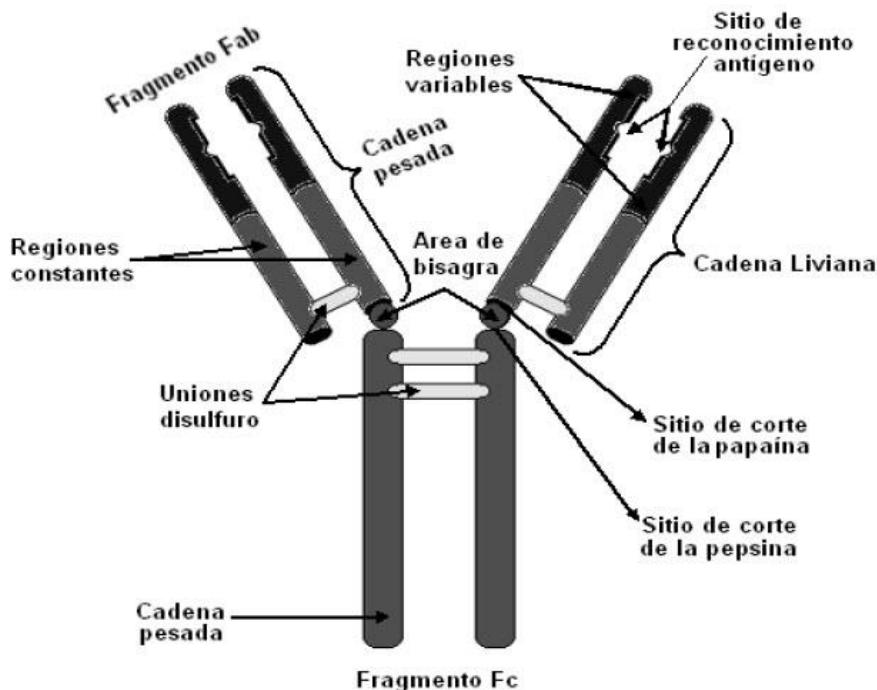


Figura 18. Estructura d'una immunoglobulina típica.

Font: Gartner J.L. Hialtt L. Altes de Histologia. 2ª ed. Mèxic. Editorial McGraw-Hill Interamericana; 199. P. 256-267.
Negroni M. Microbiologia Estomatològica, 2ª ed. Editorial mèdica panamericana; 200.p. 166-183.

1.2.2.4.2 Immunoglobulina G

És la més abundant de totes les immunoglobulines. Representa el 80% de les immunoglobulines sèriques i es troba en els fluids interns del nostre cos (sang, líquid cefaloraquidi i líquid peritoneal)¹⁶⁶⁻¹⁶⁸. La seva concentració habitual en el sèrum és de 800 a 1500 mg/dl.

Té una estructura monomèrica i un pes molecular d'uns 150 kDa. Presenta una estructura bàsica amb quatre cadenes: dues cadenes pesades (H) gammes i dues cadenes lleugeres (L) kappa o lambda¹⁶⁷ (Figura 19). En funció de les seves cadenes es diferencien quatre subclasses d'IgG (IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4) amb un pes molecular de 146 kDa, 146 kDa, 170 kDa i 4kDa respectivament i una vida mitjana de 23 dies¹⁶⁶.

És responsable de la resposta immunitària secundària i presenta una elevada capacitat d'unió a l'antigen. Les seves principals funcions són: activació del complement, estimulació de la quimiotaxi i opsonització per facilitar la fagocitosi. És l'única immunoglobulina que travessa la barrera placentària i dona immunitat passiva al fetus^{166,167,169}.

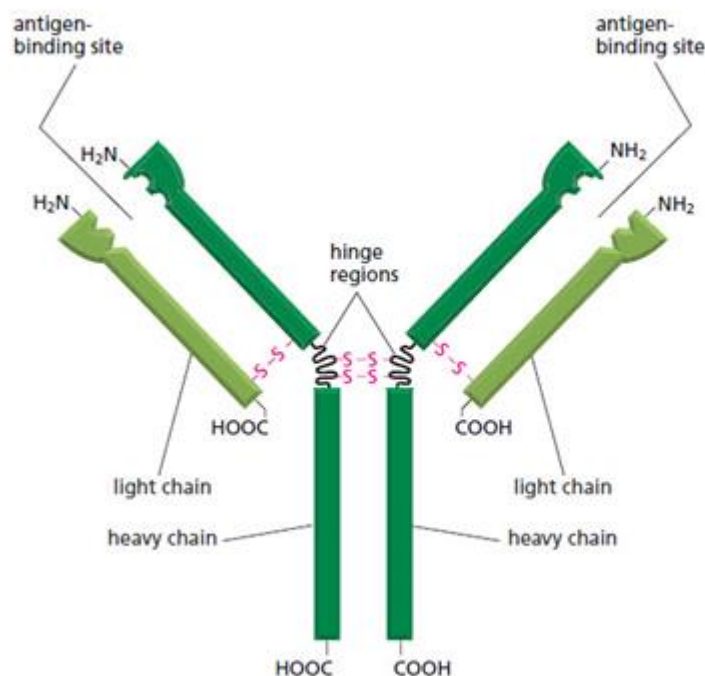


Figura 19. Estructura IgG.

Font: Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the cell. 6th Edition, 2014. The Adaptive Immune System. Chapter 25.

1.2.2.4.3 Immunoglobulina A

És una proteïna plasmàtica coneguda també com a anticòs secretor. Es troba tant en les secrecions mucoses de l'aparell respiratori, com del tracte gastro-intestinal, del genito-urinari, i també en la saliva, les llàgrimes i la llet materna. En trobar-se a la llet materna, durant els primers mesos de vida, transmet immunitat de la mare al nadó^{164, 167}.

Té una estructura bàsica de quatre cadenes: dues cadenes pesades alfa i dues cadenes lleugeres Kappa o lambda. Es seu pes molecular oscil·la entre 150 a 400 kDa i té una vida mitjana d'uns 6 dies^{166,167}. Segons com siguin les seves cadenes, es diferencien dos subtipus principals d'IgA: la IgA1 i la IgA2.

En la sang es troba en forma monòmerica i en les secrecions mucoses en forma dimèrica unida per una cadena J¹⁶⁶. La cada J és un pèptid de 15 kDa que fa de nexa o unió de monòmers d'IgA o d'IgM per a la formació pertinent d'immunoglobulines polimèriques (Figura 20).

La seva principal funció, és impedir l'entrada de microorganismes i macromolècules a l'organisme. Així doncs, actua a nivell de la mucosa epitelial impedint l'adherència de microorganismes com els virus, els bacteris i els fongs¹⁶⁴.

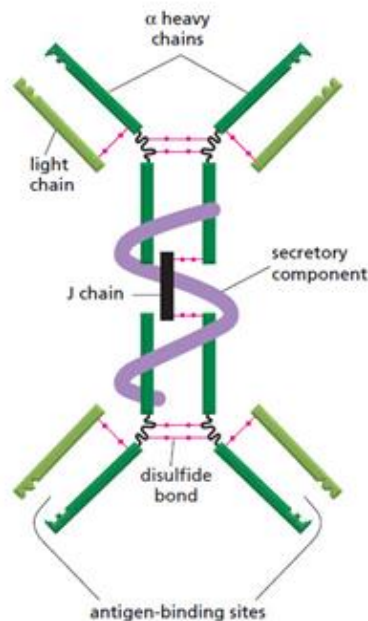


Figura 20. Estructura immunoglobulina A (IgA).

Font: Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the cell. 6th Edition, 2014. The Adaptive Immune System. Chapter 25.

1.2.2.4.4 Immunoglobulina M

La immunoglobulina M és una proteïna plasmàtica que es troba localitzada en la membrana dels limfòcits B. És la primera descrita en el curs de l'evolució filogenètica i oncogènica (el fetus ja pot sintetitzar-la en determinades circumstàncies).

La IgM, és la primera classe d'anticòs que secreten les cèl·lules B davant la presència d'un antigen¹⁶⁶. Les molècules d'IgM s'insereixen a la membrana plasmàtica on funcionen com a receptors per a l'antigen.

En la circulació té una estructura pentamèrica, formada per cinc monòmers. Cada monòmer està format per quatre cadenes unides per ponts disulfur i per la cadena J (Figura 21). Té un pes molecular d'uns 950 kDa i una vida mitjana de cinc dies. Presenta deu llocs teòrics d'unió a l'antigen.

Quan un antigen amb múltiples determinants antigènics idèntics s'uneix a una sola molècula d'IgM pentamèrica secretada, s'altera l'estructura del pentàmer i amb això es pot activar el sistema del complement. Quan l'antigen està en la superfície d'un patogen invasor, aquesta activació del complement pot eliminar el patogen per l'activació de la fagocitosis o bé directament. Però, l'activació del complement també pot augmentar en gran mesura la resposta immunitària a un antigen: la unió d'un component del complement activat a un complex antigen-anticòs, pot, per exemple, augmentar l'habilitat de l'antigen per estimular una resposta de cèl·lules B més de mil vegades.

La seva funció, és intervenir en la lisi de microorganismes que es troben a nivell sanguini, a través de l'activació del sistema de complement (per la via clàssica i per la neutralització)¹⁶⁶.

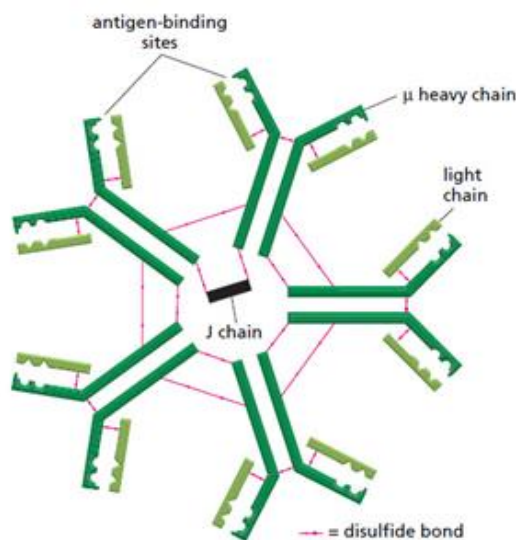


Figura 21. Estructura immunoglobulina M (IgM).

Font: Alberts B., Johnson A., Lewis J. et al. Molecular Biology of the cell. 6th Edition, 2014. The Adaptive Immune System. Chapter 25.

1.2.2.5 Relació de les immunoglobulines amb l'obesitat i factors de risc cardiovascular

En la literatura, s'ha descrit l'associació entre els nivells circulants d'immunoglobulines i paràmetres de risc cardiovascular i de síndrome metabòlica. Concretament, trobem estudis que correlacionen els nivells d'immunoglobulines amb l'obesitat¹⁷⁰⁻¹⁷⁵, la diabetis tipus 2¹⁷⁶⁻¹⁷⁸, la resistència a la insulina^{179,180} i el risc de malaltia cardiovascular^{181,182}. Són escassos, però, els estudis en nens^{183,184}.

Immunoglobulines i obesitat

Hi ha àmplia literatura que correlaciona el sistema immunitari adquirit amb l'obesitat.

Molts treballs, han objectivat una associació entre els nivells d'immunoglobulines (sobretot IgG i IgA) i l'obesitat. En un estudi realitzat amb pacients obesos sotmesos a la col·locació d'una banda gàstrica ajustable amb controls seriats d'immunoglobulines sèriques abans i després de l'operació (3 mesos i 12 mesos) han trobat una disminució global dels nivells d'immunoglobulines (IgG i IgM ja als 3 mesos i IgA en el control dels 12 mesos) coincidint amb la progressiva disminució del pes i de l'IMC¹⁷⁰.

La relació entre els nivells d'immunoglobulines i l'obesitat s'ha objectivat també en estudis experimentals amb roedors alimentats amb dieta rica en greixos, que han demostrat, no només que els limfòcits B eren les primeres cèl·lules reclutades pel teixit adipós visceral sinó també, que en el grup de ratolins obesos hi havia un increment de l'activació dels limfòcits B respecte al grup control de ratolins no obesos¹⁷¹. Aquestes mateixes troballes s'han constatat també en pacients adults amb obesitat¹⁷².

En altres estudis realitzats en pacients obesos, s'ha evidenciat una disminució dels nivells d'IgM en sang i un increment del nombre de leucòcits.¹⁷³ En aquesta mateixa línia, estudis realitzats en pacients obesos sotmesos a dejuni evidencien una disminució dels leucòcits i de les cèl·lules T i B¹⁷⁴. Fins i tot, en estudis realitzats en pacients obeses durant l'embaràs i el puerperi, s'ha constatat un increment global d'IgA tant a nivell plasmàtic com en el calostre¹⁷⁵.

Immunoglobulines i diabetis tipus 2

Estudis en pacients diabètics tipus 2 han trobat un increment de l'activació dels limfòcits B¹⁷⁶ en sèrum i estudis de pacients adults amb risc cardiovascular han evidenciat que els nivells elevats d'IgA i els nivells baixos d'IgG en sang, eren factors de risc pel desenvolupament de la diabetis tipus 2¹⁷⁷.

En cohorts de pacients diabètics en general (tipus 1 i tipus 2) s'ha constatat també un increment dels nivells plasmàtics d'IgA i se suggereix un possible paper de les IgA en la patogènesis de les complicacions vasculares de la diabetis mellitus¹⁷⁸.

Immunoglobulines i resistència a la insulina

Estudis recents han demostrat que en el teixit adipós de ratolins amb obesitat induïda per la dieta, els limfòcits B promouen la resistència a la insulina a través de la producció d'anticossos IgG¹⁷⁹. Els nivells plasmàtics d'IgA s'han associat a l'obesitat i a la síndrome metabòlica (sobretot a l'obesitat abdominal i a la hipetrigliceridèmia)¹⁸⁰.

Immunoglobulines i risc de malaltia cardiovascular

En l'edat adulta trobem diferents estudis on es correlaciona l'exposició a infeccions (sobretot a citomegalovirus) amb el risc d'infart de miocardi, accident cerebrovascular o mort cardiovascular¹⁸¹. D'altres correlacionen els nivells plasmàtics d'immunoglobulines amb un increment de risc de mort en general i sobretot per malalties infeccioses. Així mateix, aquests estudis, atribueixen als nivells elevats d'IgG un possible marcador per indicar malaltia cardiovascular subclínica¹⁸².

Immunoglobulines i risc cardiovascular en nens

En nens, s'han publicat diversos estudis que associen les infeccions agudes amb l'aparició de canvis lipídics (modificació oxidativa de les LDL i milloria de la disminució de les HDL) i amb l'engruiximent de la capa íntima-mèdia carotídia. I per tant, amb un major risc d'aterosclerosi¹⁸³.

Estudis realitzats en nens obesos, constaten, com en els adults, un increment dels limfòcits B i un increment del nivells plasmàtics d'IgA¹⁸⁴.

Tots aquests resultats ens informen que, a part del seu paper en la immunitat adquirida, les immunoglobulines (IgA, IgG i IgM) s'han associat amb la obesitat, la DM tipus 2, la resistència a la insulina i tenen una funció important en el desenvolupament de les malalties metabòliques i cardiovasculars en l'edat adulta. Els estudis en nens són escassos.

HIPÒTESI

2 HIPÒTESI

2.1 HIPÒTESI

Hipotitzem que diverses molècules del sistema immunitari innat (α -defensines i BPI) i adquirit (IgG, IgA i IgM) poden associar-se amb paràmetres d'obesitat i paràmetres de risc cardiometabòlic en l'edat pediàtrica.

Les hipòtesis específiques del treball són les següents:

- a) Els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari innat (α -defensines i BPI) i adquirit (IgG, IgA i IgM) són diferents en nens amb sobrepès i obesitat comparats amb nens primos.
- b) En nens escolars (~7 anys d'edat), els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari innat (α -defensines i BPI) i del sistema immunitari adquirit (IgG, IgA i IgM) s'associen amb diversos paràmetres cardiometabòlics, tals com: lípids, resistència a la insulina, composició corporal, tensió arterial i gruix de la íntima-mèdia carotídia.
- c) Els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari innat (α -defensines i BPI) en nens escolars (~7 anys d'edat) s'associen amb paràmetres de composició corporal d'aquests nens als ~ 10 anys d'edat.

OBJECTIUS

3 OBJECTIUS

Els objectius plantejats en aquesta tesi són els següents:

1-Estudiar la relació entre els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari innat (α -defensines i BPI) amb l'obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.

1.1.- Comparar els nivells de les α -defensines i BPI en nens escolars (~7 anys d'edat) amb diferents graus d'obesitat.

1.2.- Estudiar l'associació transversal dels nivells de α -defensines i BPI amb paràmetres cardiometabòlics en nens escolars (~7 anys d'edat).

1.3.- Estudiar l'associació longitudinal dels nivells de les α -defensines i la BPI de nens escolars (~ 7 anys d'edat) amb paràmetres cardiometabòlics en un seguiment posterior d'aquests nens (~ 10 anys d'edat).

2-Estudiar l'associació entre els nivells circulants de les molècules del sistema immunitari adquirit (IgG, IgA i IgM) amb l'obesitat i factors de risc cardiometabòlic en nens prepuberals.

2.1.- Comparar els nivells de IgG, IgA i IgM en nens escolars (~7 anys d'edat) amb diferents graus d'obesitat.

2.2.- Estudiar l'associació transversal dels nivells de IgG, IgA i IgM amb paràmetres cardiometabòlics en nens escolars (~7 anys d'edat).

MATERIAL I MÈTODES

4 MATERIAL I MÈTODES

4.1 DISSENY

S'ha fet un estudi clínic observacional a partir de dues poblacions pediàtriques:

- 1) Una cohort pediàtrica procedent de Centres de Salut de l'Alt Empordà que es va incloure entre els anys 2010-2013 a l'Hospital de Figueres.
- 2) Una cohort pediàtrica procedent de Centres de Salut de Girona que es va incloure entre els anys 2012-2014 a l'hospital Dr. Josep Trueta de Girona.

El disseny es basa en un estudi transversal en nens de 7 anys d'edat (totes dues cohorts) i en un estudi longitudinal als 10 anys d'edat (només en la cohort de l'Alt Empordà).

4.2 CONSIDERACIONS ÈTIQUES

El protocol de l'estudi va ser aprovat pels Comitès d'Ètica d'Investigació Clínica de l'Hospital Universitari de Girona Dr. Josep Trueta i de l'Institut d'Investigació en Atenció Primària Jordi Gol (Comitès de referència).

Es va recollir un consentiment informat dels tutors legals de tots els nens inclosos en l'estudi. En tot moment, es van respectar els principis fonamentals de la declaració de Helsinki així com la legislació vigent sobre la confidencialitat de dades personals i les normes ètiques sobre estudis clínics en pacients pediàtrics.

4.3 SUBJECTES D'ESTUDI

- 1) En la població pediàtrica de l'Alt Empordà, es van estudiar 250 nens caucàsics en edat escolar (126 nens i 124 nenes, amb una edat mitjana de 7.7 ± 0.2 anys; 26.4% amb sobrepès i 22.4% amb obesitat).

Els nens van ser reclutats pels pediatres dels seus Centres d'Atenció Primària de referència (l'Escala, Vilafant, Figueres i Roses) durant la visita de seguiment del nen sa. Tots els nens eren sans i tenien els paràmetres metabòlics dins dels rangs de normalitat. La participació en l'estudi va variar entre el 50 i el 70%.

Al cap de 3 anys, es va fer un seguiment d'aquests nens, que es va poder completar en 91 nens (46 nens i 45 nenes, els quals tenien una edat mitjana de 10.8 ± 0.2 anys; 16.5% amb sobrepès i 5.5% amb obesitat), que representa un 36.4 % dels individus que van començar l'estudi.

Aquesta grandària mostral, tenint en compte un risc alfa de 0.05, un risc beta de 0.2 i un tipus de contrast bilateral, ens va permetre detectar coeficients de correlació de Pearson que fossin estadísticament significatius amb un valor igual o superior a 0.18 per a l'estudi transversal i igual o superior a 0.3 per a l'estudi longitudinal.

En conjunt, aquesta població va servir per estudiar la relació de les α -defensines i la BPI amb l'obesitat i els factors de risc cardiovascular.

- 2) En la població pediàtrica de Girona, es van reclutar 270 nens caucàsics en edat escolar (147 nens i 123 nenes, amb una edat mitjana de 8.4 ± 0.1 anys); 24.1% amb sobrepès i 22.2% amb obesitat.

Els nens van ser reclutats pels pediatres dels seus Centres d'Atenció Primària de referència (Montilivi, Can Gibert del Pla, Santa Clara i Taialà) durant la visita de seguiment del nen sa. Tots els nens eren sans i tenien els paràmetres metabòlics dins dels rangs de normalitat. La participació en l'estudi també va variar entre el 50 i el 70%.

Actualment s'està fent el seguiment d'aquesta cohort però no es disposen de dades suficients per incloure'n els resultats a la tesi.

Aquesta grandària mostral, tenint en compte un risc alfa de 0.05, un risc beta de 0.2 i un tipus de contrast bilateral, ens va permetre detectar coeficients de correlació de Pearson que fossin estadísticament significatius amb un valor igual o superior a 0.17.

Aquesta població va servir per estudiar la relació de les IgG, IgM i IgA, amb l'obesitat i els factors de risc cardiovascular.

4.4 CRITERIS D'INCLUSIÓ I EXCLUSIÓ DELS NENS/ES

4.4.1 CRITERIS D'INCLUSIÓ:

4.4.1.1 Criteris d'inclusió de la visita inicial

- Nen/a escolar de 5-10 anys d'edat de les àrees de referència, els pares del qual han donat consentiment informat per participar en l'estudi.
- Absència de desenvolupament puberal segons els criteris de Tanner i Marshall^{185,186}. Per a pacients amb sobrepès també: pes estable per a la talla durant 3 mesos abans de l'inici de l'estudi.

4.4.1.2 Criteris d'inclusió de la visita de seguiment

Nota: només en el cas del grup d'estudi de l'Alt Empordà.

- Nen/a entre 8 i 12 anys sans, inclosos en la primera fase de l'estudi.
- Consentiment informat firmat pels pares o tutors dels nens participants.

4.4.2 CRITERIS D'EXCLUSIÓ PER AMBDÓS ESTUDIS:

- Nen/a prepuberal amb malaltia crònica greu o anomalies congènites.
- Nen/a prepuberal amb malaltia crònica de caràcter inflamatori o malaltia aguda intercurrent.
- Nen/a prepuberal amb consum de corticoides, antibiòtics o antiinflamatoris durant els darrers 15 dies a l'inici de l'estudi.*

*En aquest darrer punt, en alguns casos es va endarrerir la inclusió del nen fins haver finalitzat els 15 dies del procés intercurrent o del final del tractament.

- Nen/a prepuberal amb alteracions de l'hemograma, la funció tiroïdal, hepàtica i/o renal.
- Nen/a de raça no caucàsica.
- Nen/a sense el consentiment informat firmat.

4.5 VARIABLES

4.5.1 VARIABLES CLÍNiques

L'examen clínic i l'anàlisi de sang es van realitzar al matí (entre 8:00 i 9:00h) i amb els pacients en dejú.

En l'examen clínic o valoració física, es van constatar les següents determinacions:

- **Pes:** el pes es va mesurar amb l'ajuda d'una bàscula calibrada abans de cada determinació (marca SECA). Tots els nens es van pesar en roba interior i sense sabates. El pes es va expressar en gr.
- **Talla:** la talla es va mesurar amb els nens amb bipedestació i sense sabates i en condicions estandarditzades amb el cap situat en el pla de Frankfurt (línia imaginària traçada des de l'extrem inferior de l'òrbita fins al marge superior del conducte auditu extern). Per a tal fi, es va utilitzar un estadiòmetre de Harpenden que estava fixat amb el pla superior mòbil.
- **IMC:** amb les dues variables anteriors es va calcular l'Índex de massa corporal (IMC) segons la fórmula $IMC = \text{pes}/\text{talla}^2 = \text{kg}/\text{m}^2$. Es van utilitzar dades regionals normatives per calcular els valors estàndards en funció del sexe i l'edat de cada nen per al pes, la talla i l'IMC ¹².

El punt de tall utilitzat per determinar la presència de sobrepès i/o obesitat va ser: prim ($IMC\text{-}SDS < 1$), sobrepès ($1 \leq IMC\text{-}SDS < 2$) i obesitat ($IMC\text{-}SDS \geq 2$).

- **Perímetre abdominal (PA):** el perímetre abdominal es va mesurar amb una cinta mètrica graduada en centímetres, tal i com ho fa la Societat Espanyola d'estudi de la obesitat (SEDO)¹⁸⁷. Es va col·locar el nen en decúbit supí amb els braços en posició anatòmica i es va mesurar el perímetre abdominal, seguint la línia que passa a l'alçada del melic.
- **Tensió arterial (TA):** la pressió arterial (TA) es va mesurar amb un oscil·lòmetre electrònic (Dinamap Pro 100, GE Healthcare, Chalfont St. Giles, United Kingdom), escollint el maneguet adequat per a la grandària del braç. La TA es va obtenir amb el pacient en posició supina a nivell del braç dret i després de 10 minuts de repòs.
- **Composició corporal (massa grassa, massa magra i aigua corporal total):** es van mesurar per mitjà d'impedància bio-elèctrica (Hydra Bioimpedance Analyzer 4200, Xitron Technologies, San Diego, CA).

Es tracta d'una tècnica no invasiva que s'ha utilitzat i validat en nens i les mesures obtingudes es correlacionen bé amb dades d'absorciometria dual de rajos X (DXA)^{188,189}.

4.5.2 VARIABLES ANALÍTIQUES

Es va practicar una extracció de sang venosa (màxim 15 ml de sang) que van servir per a la realització d'una analítica general (hemograma, bioquímica general, glucosa, insulina i perfil lipídic) a cada nen/a i per a l'elaboració d'una seroteca i plasmoteca (mantinguda a -80°) per a futurs estudis.

Així mateix, totes les extraccions es van realitzar en un ambient tranquil i després de l'aplicació de crema anestèsica a la pell (crema EMLA, d'ús habitual a pediatria) i per personal experimentat (infermer) per minimitzar les molèsties de la punció.

4.5.2.1 Elaboració d'una seroteca i d'una plasmoteca

Per obtenir el plasma, es va recollir la mostra de sang venosa en un tub de centrífuga estèril amb EDTA (anticoagulant). Immediatament es va centrifugar a 3500 rpm durant 15 minuts a una temperatura de 4°C. Un cop centrifugat es va separar el plasma i la fracció cel·lular.

Per obtenir sèrum es va recollir la mostra de sang en un tub de centrífuga estèril sense anticoagulant amb separació de gel inert. Es va deixar reposar la mostra durant 30 minuts perquè es formés el coàgul i llavors es va centrifugar la mostra a 3500 rpm durant 15 minuts a 4°C.

Tant del plasma com del sèrum, se'n va fer alíquotes de 300-400 ul en microtubs d'1.5 ml, per evitar així un gran nombre de cicles de congelació-descongelació de les mostres en posteriors estudis. Aquestes alíquotes van ser etiquetades correctament amb el codi de la mostra, la data i el seu contingut i guardades a -80°C en les seves corresponents caixes, per un emmagatzematge de llarga durada.

4.5.2.2 Analítica general

En l'analítica generals es van analitzar les variables de laboratori de rutina: hemograma, bioquímica immunologia-hormones. Aquestes variables de laboratori es van dur a terme en el Laboratori Clínic de l'Hospital diàriament amb la inclusió de cada individu.

- **Glucosa i insulina:** la glucosa en sèrum es va quantificar per mitjà del mètode de la hexoquinasa i la insulina per mitjà d'immunoquimioluminescència (IMMULITE 2000, Diagnòstic Products, Los Angeles, CA). El límit de detecció d'insulina es va fixar en 0'4 mIU/L i el coeficient de variació intra i inter-assaig va ser menor del 10%.
- **Resistència a la insulina:** la resistència a la insulina es va calcular utilitzant l'avaluació del model d'homeòstasi (HOMA; Matthews, 1985: $HOMA-IR = (insulina \text{ mU/l}) \times (glucosa \text{ mM}) / 22'5$)⁴⁶.

- **Lípids:** els lípids en el sèrum es van mesurar a partir de tests automàtics: els triglicèrids totals del sèrum (TG) es van mesurar a partir de la monitorització de la reacció de l'enzim glicerol-fosfat oxidasa (ARCHITECT, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) amb un límit inferior de detecció de 5 mg/dl i un coeficient de variabilitat intra i inter-assaig per sota del 5%.

El colesterol d'alta densitat (HDL) es va quantificar utilitzant el mètode homogeni del detergent selectiu amb accelerador (ARCHITECT, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) amb un límit inferior de detecció de 2'5 mg/dl i un coeficient de variabilitat per sota del 4%.

- **Transaminases:** la detecció en el sèrum d'aspartat transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALT) i gammaglutamil transferasa (GGT) es va mesurar per tests automàtics colomètrics (Sentinel Diagnostics, Abbott Diagnostics Europe, Milan, Italy). Els coeficients de variabilitat intra i inter-assaigs van ser inferiors al 4% per a tots els tests.
- **Proteïna C Reactiva ultrasensible (PCRus):** els nivells en sèrum de proteïna C reactiva (PCR) es van mesurar utilitzant la tècnica *immunoensayo ultrasensible de látex CRP Vario* (Sentinel Diagnostics, Abbott Diagnostics Europe, Milan, Italy). El límit inferior de detecció es va fixar en 0.2 mg/L i els coeficients de variació intra i inter-assaig van ser inferiors al 3%. Tots els valors < 0.2 mg/L es van codificar com a 0.2.
- **Adiponectina d'alt pes molecular (APM):** l'adiponectina total i l'adiponectina d'APM es van quantificar per mitjà d'assaigs immunoabsorbents lligats a enzims (ELISA: *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) tipus Sandwich (Linco, St. Charles, MO). El límit inferior de detecció va ser 0.2 ng/mL i el coeficient de variació va ser inferior al 4%.

4.5.3 VARIABLES ESPECÍFIQUES

4.5.3.1 Defensines

Els nivells totals de les α -defensines es van mesurar en plasma utilitzant el kit ELISA comercial "HUMAN HNP 1-3 ELISAS test" (Hycult Biochnology Uden, The Netherlands) i es van seguir les instruccions recomanades pel fabricant.

Aquest Kit mesura les tres principals defensines humanes 1, 2 i 3, que com hem dit abans, són característiques dels neutròfils i representen al voltant del 99% del contingut total de defensina d'aquestes cèl·lules. El kit es basa en un ELISA tipus sandvitx, amb un temps de treball de 3 hores i mitja.

El límit de detecció per aquest mètode és de 156 pg/ml i els coeficients de variació són inferiors al 8%.

4.5.3.1.1 *Protocol*

El kit per a la detecció de les α -defensines consisteix en una ELISA de fase sòlida basada en el mètode de sandvitx que utilitza dos anticossos policlonals específics altament reactius contra les α -defensines humanes 1-3 i permet detectar les proteïnes en sis passos.

Un dels anticossos està fixat en la placa bloquejada contra unions no específiques. A continuació, 100 μ l de les mostres no diluïdes i dels estàndards s'afegeixen directament a cada pou i s'incuben durant 1 hora a 20-25°C amb agitació suau. El següent pas consisteix a rentar la placa quatre vegades amb 200 μ l de tampó de rentat i afegir després 100 μ l del segon anticòs anti-defensines (anticòs traçador biotinilat) que cal incubar una hora a 20-25°C amb agitació suau. Posteriorment es renta 4 vegades amb el tampó de rentat i s'afegeixen 100 μ l del conjugat enzimàtic d'estreptavidina-peroxidasa. S'incuba de nou una hora a 20-25° amb agitació suau. Després es renta de nou 4 vegades amb el tampó de rentat i s'afegeixen 100 μ l del substrat (tetrametilbencidina (TMB)). S'incuba 30 minuts a temperatura ambient de 20-25°C. La combinació entre l'estreptavidina-peroxidasa amb l'anticòs traçador biotinilat reacciona amb el substrat donant lloc a una reacció colomètrica.

La quantitat de color obtinguda és proporcional a la quantitat de les α -defensines presents a les mostres i als estàndards. Per poder quantificar-ho, es va aturar la reacció amb 100 μ l de solució d'aturada (àcid oxàlic). Finalment, es va poder mesurar la reacció obtinguda a una absorbància a 450 nm amb un lector de plaques d'ELISA per obtenir l'absorbància de cada una de les mostres. Aquesta absorbància ens va servir per obtenir les concentracions de les α -defensines de cada mostra. Per mitjà d'una recta loglineal creada amb els

estàndards i per interpolació de l'absorbància de les nostres mostres en aquesta, es van obtenir les concentracions en ng/ml.

Per evitar la contaminació de les mostres es van utilitzar micropipetes automàtiques d'un sol ús (són micropipetes on el volum a succionar està automatitzat. Funcionen a base d'uns pistons que varien la longitud d'una columna d'aire. Aquesta part mecànica està separada del recipient on es diposita el líquid que és una punta d'emprar i tirar per evitar contaminacions).

4.5.3.2 Bacterial/permeability-increasing protein (BPI)

Els nivells de BPI es van mesurar en plasma utilitzant l'ELISA comercial "HUMAN BPI ELISA test" Kit (*Hycult Biochnology Uden, The Netherlands*) i es van seguir les instruccions pertinents del fabricant. Aquest Kit es basa en un ELISA tipus sandvitx amb un temps de treball de 4 hores i mitja.

El límit de detecció per aquest mètode és de 250 mg/ml i els coeficients de variació són inferiors al 8%.

4.5.3.2.1 *Protocol*

El Kit utilitza anticossos policlonals específics altament reactius contra les BPI humanes i permet detectar la proteïna en sis passos.

Un dels anticossos està fixat a la placa bloquejada contra unions no específiques. A continuació es renta la placa quatre vegades amb 200 µl de tampó de rentat. A continuació, s'afegeixen 100 µl de les mostres no diluïdes i dels estàndards directament a cada pou i s'incuben durant 2 hores a 20-25°C amb agitació suau. El pas següent consisteix a rentar la placa quatre vegades amb 200 µl de tampó de rentat i afegir 100 µl del segon anticòs anti-BPI (anticòs traçador biotinitat) que cal incubar durant una hora a 20-25°C amb agitació suau. Posteriorment es renta 4 vegades amb el tampó de rentat i s'afegeixen 100 µl del conjugat enzimàtic d'estreptavidina-peroxidasa. S'incuba de nou una hora a 20-25° amb agitació suau. Després es renta de nou 4 vegades amb el tampó de rentat i s'afegeixen 100 µl del substrat (TMB). S'incuba 30 minuts a temperatura ambient de 20-25°C. La combinació entre l'estreptavidina-peroxidasa amb l'anticòs traçador biotinitat reacciona amb el substrat que hem utilitzat (TMB) donant lloc a una reacció colomètrica.

La quantitat de color obtinguda és proporcional a la quantitat de BPI present a les mostres i als estàndards. Per poder quantificar-ho es va aturar la reacció amb 100 µl de solució d'aturada (àcid oxàlic). Finalment, es va poder mesurar la reacció obtinguda a una absorbància a 450 nm amb un lector de plaques d'ELISA per obtenir l'absorbància de cada una de les mostres. Aquesta absorbància ens va servir per obtenir les

concentracions de BPI de cada mostra. Per mitjà d'una recta loglineal creada amb els estàndards i per interpolació de l'absorbància de les nostres mostres en aquesta, es van obtenir les concentracions en ng/ml.

Per evitar la contaminació de les mostres es van utilitzar micropipetes automàtiques d'un sol ús.

4.5.3.3 Immunoglobulines IgG, IgA i IgM

Les immunoglobulines totals en sèrum: IgG, IgA i IgM es van mesurar amb el *kit Image Immunochemistry Systems* (Beckman Coulter IgG, IgA i IgM, respectivament) utilitzant la maquinària del laboratori clínic del Hospital Trueta. Els coeficients de variabilitat intra-assaig són de 2-2.6%, 2.5-2.9% i 2.4-3.2% respectivament.

4.5.3.3.1 *Protocol*

Aquest kit es basa en l'avaluació de la llum dispersada per les partícules suspeses en solució com a resultat de complexos formats durant la reacció antígen-anticòs. Es realitza a partir de la mesura de la terbolesa d'una solució o suspensió en la qual la quantitat de llum transmesa es quantifica amb un espectrofotòmetre o s'estima mitjançant comparació visual amb solucions de terbolesa coneguda. El programa IMAGE Immunochemistry System incorporat a la màquina, calcula automàticament els resultats.

4.6 RECOLLIDA I ANÀLISI DE DADES

Les dades clíniques s'han recollit en programes informàtics durant els controls de salut del nen sa. S'ha utilitzat el programa informàtic SPSS versió 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) per a l'anàlisi estadística de les dades.

Els resultats s'han expressat com a mitjana \pm EEM (error estàndard de la mitjana). S'ha comprovat si les variables estudiades seguien la distribució normal amb el test de Kolmogorov-Smirnov. Les variables quantitatives que no seguien una distribució normal s'han transformat logarítmicament.

Les diferències en les variables clíniques, bioquímiques i vasculars entre els grups de l'estudi s'han examinat mitjançant el test t-Student per a dades no aparellades. La significació estadística s'ha establert en $p < 0.05$.

La relació entre les molècules de l'estudi (α -defensines, BPI, immunoglobulines IgG, IgA, IgM) i els marcadors de risc cardiometabòlic s'ha analitzat mitjançant correlació simple de Pearson seguida d'anàlisi de regressió múltiple per ajustar per possibles factors de confusió.

RESULTATS

5 RESULTATS

5.1 SISTEMA IMMUNITARI INNAT, OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC

5.1.1 POBLACIÓ D'ESTUDI

Per realitzar aquest estudi es va utilitzar un grup de 250 nens/es (124 nenes i 126 nens) de la població de referència dels Centres de Salut de l'Alt Empordà, que van ser inclosos entre 2010 i 2013 a l'Hospital de Figueres amb una edat mitjana de 7.7 anys (taula 5).

El grup presentava un IMC mitjà de 19.3 que correspon a un z-score (IMC-SDS) de 0.6 i incloïa un 26.4% de nens amb sobrepès i un 22.4% de nens amb obesitat (taula 5).

En tots ells es van determinar els nivells de α -defensines i BPI en sang. Els valors de les α -defensines van variar des de 2.5 ng/ml a 3.2 ng/ml; els de BPI van variar de 9.7 ng/ml a 14.8 ng/ml. Els rangs observats en totes les proteïnes eren normals per l'edat.

L'estudi longitudinal es va realitzar en 91 d'aquests nens/es (45 nenes i 46 nens) amb una edat mitjana de 10.8 anys. El grup presentava un IMC mitjà de 19.4 que correspon a un z-score de 0.5 i incloïa un 16.5% amb sobrepès i un 5.5% amb obesitat (taula 5).

La població d'estudi basal (~7 anys d'edat) es va dividir segons el grau d'obesitat en: prims (IMC-SDS <1, n=128) i no prim (IMC-SDS \geq 1, n=122, taula 6).

Comparant els nens prims i no prims no es van observar diferències entre el sexe i l'edat però sí amb els paràmetres d'obesitat i risc cardiometabòlic (tots $p < 0.0001$), tal i com és lògic (taula 6).

A més, els nens no prims es van subdividir en sobrepès ($1 \leq \text{IMC-SDS} < 2$, n=66) i obesitat (IMC-SDS ≥ 2 , n=56). Els nens no prims (tant amb sobrepès com obesitat) mostraven, valors més elevats de defensines ($p=0.02$ i $p=0.004$ respectivament) i més baixos de BPI que els nens prims ($p=0.002$ i $p < 0.0001$ respectivament, Figura 22). No s'observaren diferències en aquests valors entre els nens amb sobrepès ($1 \leq \text{IMC-SDS} < 2$) i obesitat (IMC-SDS ≥ 2).

Taula 5. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de l'Alt Empordà en l'estudi transversal (basal) i l'estudi longitudinal (seguiment al cap de 3 anys).

	Estudi basal (n=250)	Estudi seguiment(n=91)
Paràmetres antropomètrics		
Edat (anys)	7.7 ±0.2	10.8 ±0.2
Sexe femení (%)	49.7	50.5
Pubertat (%)	0	47.2
Pes (kg)	33.3 ±1.5	42.1 ± 2.3
Alçada (cm)	128 ± 1	144 ±3
IMC (kg/m ²)	19.3 ± 0.3	19.4 ± 0.8
IMC z-score	0.6 ±0.2	0.5 ± 0.2
Perímetre abdominal (cm)	62.8 ± 1.4	70.4 ± 2.2
Massa grassa (%)	33.1 ± 0.9	32.7 ±1.4
TAs (mmHg)	104 ± 1.8	104 ± 1.5
GIMc (cm)	0.042 ± 0.001	0.047 ± 0.001
Paràmetres metabòlics		
Glucosa (mg/dL)	86 ± 0.4	88 ± 0.9
HDL-colesterol (mg/dL)	54 ± 0.8	56 ±1.7
TG (mg/dL)	62 ± 2.6	59 ±3.1
Insulina (mIU/L)	4.3 ±0.5	4.4 ± 0.7
HOMA-IR	0.94 ± 0.10	0.97 ± 0.15
Adiponectina APM (mg/L)	7.3 ±0.3	16.6 ± 3.5
PCRus (mg/L)	1.5 ± 0.2	1.1 ±0.3
α-defensines (ng/ml)	2.8 ± 0.2	--
BPI (ng/ml)	12.3 ± 2.5	--

Els resultats de les variables quantitatives s'expressen com a mitjana±EEM. IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat; BPI: bacterial/permeability-increasing protein.

Taula 6. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de l'Alt Empordà en l'estudi transversal (basal) classificats segons IMC en prim (IMC-SDS<1) i no prim (IMC-SDS≥1).

	Tots els individus (n=250)	Prims (IMC-SDS<1) (n=128)	No prim (IMC-SDS ≥1) (n=122)	p
Paràmetres antropomètrics				
Edat (anys)	7.7 ± 0.2	7.0 ± 0.1	8.5 ± 0.1	<0.0001
Sexe femení (%)	49.7	49.1	50.2	ns
Pes (Kg)	33.3 ± 1.5	25.5 ± 8.4	43.8 ± 1.1	<0.0001
Alçada (cm)	128 ± 1	123 ± 1	134 ± 1	<0.0001
IMC (kg/m ²)	19.3 ± 0.3	16.3 ± 0.1	23.3 ± 0.2	<0.0001
IMC-SDS	0.6 ± 0.2	-0.2 ± 0.1	2.0 ± 0.1	<0.0001
Perímetre abdominal (cm)	62.8 ± 1.4	54.2 ± 0.6	74.2 ± 0.9	<0.0001
Massa grassa (%)	33.1 ± 0.9	29.3 ± 0.5	37.9 ± 0.7	<0.0001
TAs (mmHg)	104.7 ± 1.8	101.4 ± 0.8	108.5 ± 1.0	<0.0001
GIMc	0.042 ± 0.001	0.040 ± 0.001	0.043 ± 0.001	0.003
Paràmetres metabòlics				
Glucosa (mg/dL)	86.6 ± 0.4	85.4 ± 0.5	88.1 ± 0.6	0.001
HDL-colesterol (mg/dL)	53.6 ± 0.8	56.8 ± 0.9	49.7 ± 0.9	<0.0001
TG (mg/dL)	62.3 ± 2.6	54.4 ± 1.8	73.9 ± 3.8	<0.0001
Insulina (mIU/L)	4.3 ± 0.4	2.6 ± 0.3	6.6 ± 0.5	<0.0001
HOMA-IR	0.94 ± 0.1	0.56 ± 0.1	1.48 ± 0.1	<0.0001
Adiponectina APM (mg/L)	7.3 ± 0.3	8.2 ± 0.4	5.4 ± 0.3	<0.0001
PCRus (mg/L)	2.4 ± 0.2	1.3 ± 0.2	3.7 ± 0.5	<0.0001
α-defensines (ng/ml)	2.8 ± 0.2	2.1 ± 0.1	3.7 ± 0.2	<0.0001
BPI (ng/ml)	12.3 ± 2.5	17.1 ± 2.9	8.4 ± 1.1	0.002

Els resultats de les variables quantitatives s'expressen com a mitjana ± EEM. IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat; BPI: bacterial/permeability-increasing protein. Els valors de la p s'han obtingut mitjançant el test t-Student.

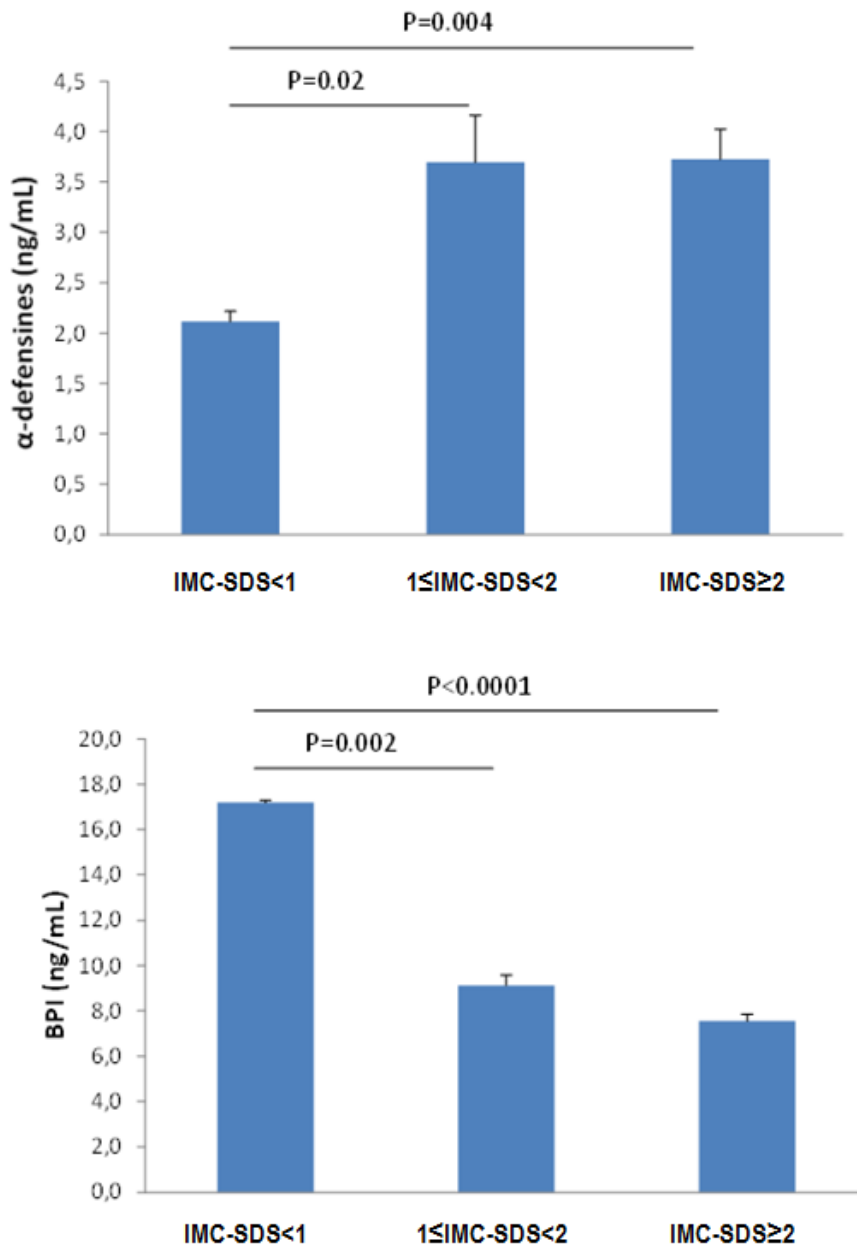


Figura 22. Gràfic de barres dels nivells de α-defensines i BPI en l'estudi transversal (basal). Els nens d'estudi es van classificar segons l'IMC en prims (IMC-SDS<1), sobrepès (1≤IMC-SDS<2) i obesitat (IMC-SDS≥2). Els valors de la p es van obtenir mitjançant el test t-Student.

5.1.2 α-DEFENSINES

5.1.2.1 Estudi transversal

Els resultats de l'estudi transversal (~7 anys d'edat) van mostrar que les α-defensines s'associaven a un perfil metabòlic més desfavorable, segons es dedueix de la seva associació positiva amb l'IMC ($r=0.377$, $p<0.001$), l'IMC-SDS ($r=0.406$, $p<0.0001$), el percentatge de massa grassa ($r=0.239$, $p<0.0001$), el perímetre abdominal ($r=0.365$, $p<0.0001$), la TA sistòlica ($r=0.223$, $p=0.001$), el GIMc ($r=0.191$, $p=0.002$), els valors d'insulina en dejú ($r=0.245$, $p<0.0001$), l'HOMA-IR ($r=0.253$, $p<0.0001$) i la PCRus ($r=0.23$, $p=0.001$) i la seva associació negativa amb el colesterol HDL ($r=-0.179$, $p=0.003$) i l'adiponectina d'APM ($r= -0.214$, $p=0.0001$). (Taula 7 i Figura 23). No es van observar diferències en aquestes associacions separant la població d'estudi segons els grau d'obesitat (dades no mostrades).

Taula 7. Correlació entre α-defensines basals (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics basals (~7 anys).

α-defensines (~ 7 anys)	r	p
Paràmetres antropomètrics (~7 anys)		
IMC	0.377	<0.0001
IMC-SDS	0.406	<0.0001
Massa grassa (%)	0.239	<0.0001
Perímetre abdominal	0.365	<0.0001
TAs	0.223	0.001
GIMc	0.191	0.002
Paràmetres metabòlics (~7 anys)		
Glucosa	0.031	0.639
HDL-colesterol	-0.179	0.003
TG	0.097	0.134
Insulina en dejú	0.245	<0.0001
HOMA-IR	0.253	<0.0001
Adiponectina APM	-0.214	0.001
PCRus	0.230	0.001

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat.

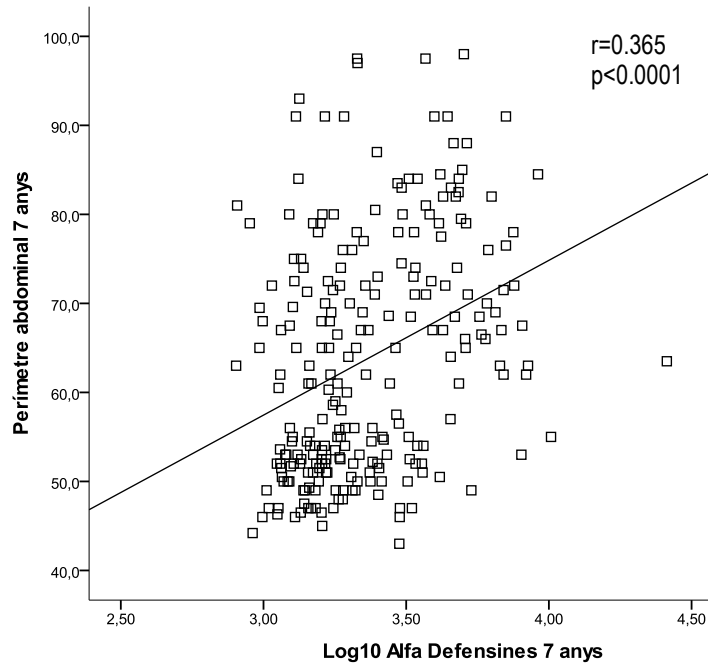


Figura 23. Correlació gràfica entre les α -defensines basals (~7 anys) amb el perímetre abdominal (~7 anys). Els valors de r i de p corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson.

L'anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió (el sexe, la TA sistòlica, els lípids, la PCRus, l'HOMA-IR i l'adiponectina d'APM) va mostrar que el perímetre abdominal ($\beta=0.496$, $p < 0.0001$) i l'edat ($\beta=-0.103$, $p=0.024$) eren predictors independents de les α -defensines explicant un 13.7% de la seva variància (taula 8).

Taula 8. Anàlisi de regressió múltiple de les α -defensines basals (~7 anys) com a variable dependent.

	β	P	R ²
α-defensines(~ 7 anys)			
Perímetre abdominal(~7 anys)	0.496	<0.0001	0.137
Edat (~7 anys)	-0.193	0.024	

Variables no predictives: edat, sexe, TAs, lípids, PCRus, HOMA-IR i adiponectina d'APM.

5.1.2.2 Estudi longitudinal

Els resultats de l'estudi longitudinal mostraven que les concentracions plasmàtiques de les α -defensines a l'edat de 7 anys s'associaven significativament amb diverses variables en el seguiment (~10 anys), entre d'altres: l'IMC ($r=0.510$, $p<0.0001$), l'IMC-SDS ($r=0.500$, $p<0.0001$), la massa grassa ($r=0.248$, $p=0.020$), el perímetre abdominal ($r=0.495$, $p<0.0001$), l'HDL-colesterol ($r=-0.246$, $p=0.026$), la insulina en dejú ($r=0.277$, $p=0.010$) i l'HOMA-IR ($r=0.262$, $p=0.014$). (Taula 9 i Figura 24).

Taula 9. Correlació entre α -defensines basals (~7anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics al seguiment (~10 anys).

α -defensines(~7 anys)	r	p
Paràmetres antropomètrics (~10 anys)		
IMC	0.510	<0.0001
IMC-SDS	0.500	<0.0001
Massa grassa (%)	0.248	0.020
Perímetre abdominal	0.495	<0.0001
TAs	0.178	0.093
GIMc	0.075	0.478
Paràmetres metabòlics (~10 anys)		
Glucosa	-0.124	0.222
HDL-colesterol	-0.246	0.026
TG	0.103	0.310
Insulina en dejú	0.277	0.010
HOMA-IR	0.262	0.014
Adiponectina APM	0.073	0.571
PCRus	0.146	0.152

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat.

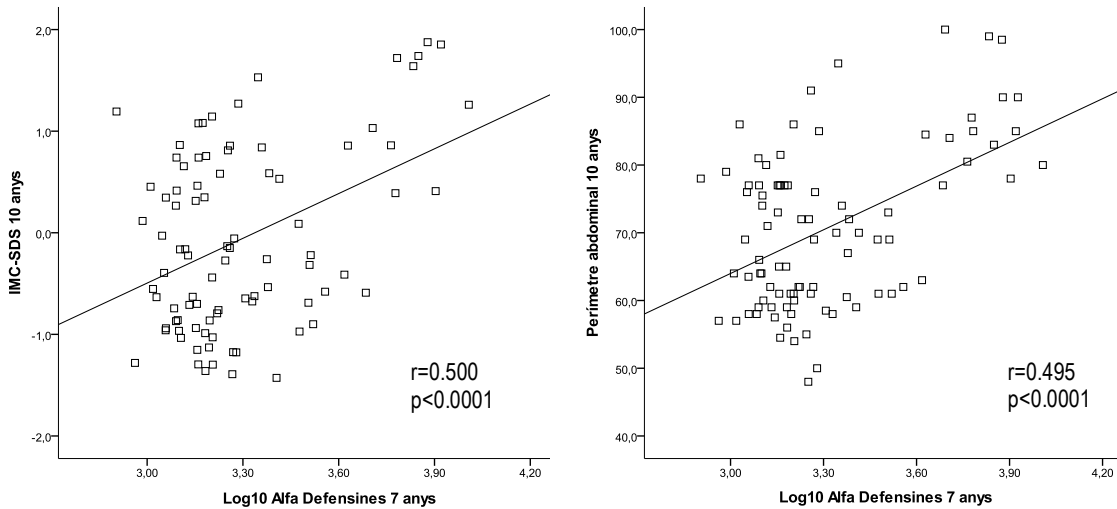


Figura 24. Correlació gràfica entre les α -defensines basals (~7 anys) amb l'índex de massa corporal al seguiment (IMC-SDS ~10 anys) i el perímetre abdominal al seguiment (~10 anys). Els valors de r i de p corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson.

L'anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió (l'edat, el sexe, la pubertat, la TA sistòlica, els lípids, la PCRus, l'HOMA-IR i l'adiponectina d'APM) va mostrar que els nivells de les α -defensines als ~7 anys eren un predictor independent de l'IMC ($\beta=0.756$, $p<0,0001$) i el perímetre abdominal ($\beta=0.241$, $p=0,001$) als ~10 anys d'edat, i que explicaven, en conjunt amb la resta de les variables del model, el 84.7% i 75.4% de la seva variància, respectivament (taula 10).

No es van observar diferències en aquestes associacions separant la població d'estudi segons els graus d'obesitat (dades no mostrades).

Taula 10. Anàlisi de regressió múltiple amb l'IMC al seguiment (~10 anys) i el perímetre abdominal al seguiment (~10 anys) com a variables dependents.

	β	p	R ²
IMC(~ 10 anys)			
IMC (~7 anys)	0.756	<0.0001	0.847
α -defensines (~7 anys)	0.189	0.002	
Pubertat	0.122	0.027	
Anys de seguiment	0.106	0.044	
Edat (~7 anys)	-0.171	0.002	
Adiponectina APM (~7 anys)	-0.113	0.038	
Perímetre abdominal (~10 anys)			
Perímetre abdominal (~7anys)	0.794	<0.0001	0.754
α -defensines (~7 anys)	0.241	0.001	
Anys de seguiment	0.168	0.034	

IMC: índex de massa corporal; Adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular. La R² mostra l'efecte combinat de les variables independents. Variables no predictives: edat, sexe, pubertat, TAs, lípids, HOMA-IR, PCRus i adiponectina d'APM.

5.1.3 BACTERIAL/PERMEABILITY-INCREASING PROTEIN-BPI

5.1.3.1 Estudi transversal

Els resultats de l'estudi transversal (~7 anys d'edat) mostraven que les concentracions plasmàtiques de BPI, s'associaven a un millor perfil metabòlic i a un fenotip cardiovascular més favorable. Concretament mostraven associacions negatives amb l'IMC ($r=-0.319$, $p<0.0001$), l'IMC-SDS ($r=-0.286$, $p<0.0001$), el percentatge de massa grassa ($r=-0.329$, $p<0.0001$), el perímetre abdominal ($r=-0.124$, $p=0.042$), la TA sistòlica ($r=-0.124$, $p=0.042$), el GIMc de la caròtida ($r=-0.210$, $p=0.001$), la glucosa ($r=-0.163$, $p=0.007$), la insulina en dejú ($r=-0.184$, $p=0.002$), i l'HOMA-IR ($r=-0.178$, $p=0.003$). Així mateix mostraven una associació positiva amb l'adiponectina d'APM ($r=0.194$; $p=0.001$, taula 11).

No es van observar diferències en aquestes associacions separant la població d'estudi segons els grau d'obesitat (dades no mostrades).

Taula 11. Correlació entre BPI basal (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics basals (~7 anys).

BPI (~7 anys)	r	p
Paràmetres antropomètrics (~ 7 anys)		
IMC	-0.319	<0.0001
IMC z-score	-0.286	<0.0001
Massa grassa (%)	-0.204	0.001
Perímetre abdominal	-0.329	<0.0001
TAs	-0.124	0.042
GIMc	-0.210	0.001
Paràmetres metabòlics (~ 7 anys)		
Glucosa	-0.163	0.007
HDL-colesterol	0.019	0.755
TG	0.021	0.733
Insulina en dejú	-0.184	0.002
HOMA-IR	-0.178	0.003
Adiponectina APM	0.194	0.001
PCRus	-0.047	0.441

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. IMC: índex de massa corporal; IMC z-score: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat.

En anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió (l'edat, el sexe, la TA sistòlica, els lípids, la PCR, l'HOMA-IR i l'adiponectina d'APM), el perímetre abdominal ($\beta = -0.337$, $p < 0.0001$) era un predictor independent de les BPI explicant un 12.5% de la seva variància (taula 12).

Taula 12. Anàlisi de regressió múltiple amb BPI basal (~7 anys) com a variable dependent.

	β	P	R ²
BPI(~7 anys)			
Perímetre abdominal (~7 anys)	-0.337	<0.0001	0.125

BPI: bacterial/permeability-increasing protein. Variables no predictives: edat, sexe, TAs, lípids, PCRus, HOMA-IR i adiponectina d'APM.

5.1.3.2 Estudi longitudinal

Les concentracions plasmàtiques de BPI a l'edat de 7 anys no s'associaven amb cap de les variables metabòliques estudiades en el grup de seguiment (taula 13).

Taula 13. Correlació entre BPI basal (~7 anys) i els paràmetres antropomètrics i metabòlics en l'estudi seguiment (~10 anys).

BPI (~7 anys)	r	p
Paràmetres antropomètrics (~ 10 anys)		
IMC	0.112	0.303
IMC z-score	0.109	0.307
Massa grassa (%)	0.078	0.461
Perímetre abdominal	0.104	0.309
TAs	0.020	0.858
GIMc	0.137	0.208
Paràmetres metabòlics (~ 10 anys)		
Glucosa	0.075	0.473
HDL-colesterol	0.089	0.394
TG	0.102	0.310
Insulina en dejú	0.234	0.056
HOMA-IR	0.234	0.056
Adiponectina APM	0.020	0.879
PCRus	0.046	0.666

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. IMC: índex de massa corporal; IMC z-score: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat.

5.2 IMMUNITAT ADQUIRIDA, OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLICS

5.2.1 POBLACIÓ D'ESTUDI

Per a realitzar aquest estudi es va utilitzar un grup de 270 nens/es (123 nenes i 147 nens) de la població de referència del Centres de Salut de Girona, que van ser inclosos entre 2012 i 2014 a l'Hospital Josep Trueta amb una edat mitjana de 8.4 anys (taula 14).

El grup presentava un IMC mitjà del 20.1 que correspon a un score (IMC-SDS) de 0.8 i incloïa un 24.1% (n=65) de nens amb sobrepès i 22.2% (n= 60) de nens amb obesitat. En tots ells es va determinar els nivells de IgG, IgA i IgM en sang. Els valors d'IgG van variar des de 481 a 1710 mg/dl; els de IgA de 6'7 a 240 mg/dl i els de IgM de 45 a 262 mg/dl. Els rangs observats en totes les immunoglobulines eren normals per l'edat.

Per a l'anàlisi dels resultats, la població d'estudi es va dividir segons el grau d'obesitat en: prims (IMC-SDS <1, n=145) i no prims (IMC-SDS ≥1, n=125). Els nens no prims es van subdividir en sobrepès (1 ≤ IMC-SDS <2, n=65) i obesitat (IMC-SDS ≥2, n=60).

Comparant els nens prims i no prims no es van observar diferències entre el sexe i l'edat però sí amb els paràmetres d'obesitat, tal i com és lògic, i de risc cardiometabòlic (pes, talla, IMC, IMC-SDS, massa grassa, perímetre abdominal, GIMc, insulina, HOMA-IR, triglicèrids, HDL-colesterol (tots $p < 0.0001$, taula 14)).

Els nens no prims mostraven valors més elevats d'immunoglobulines IgG i IgA que els nens prims ($p=0.012$ i $p=0.008$ respectivament) i presentaven diferències estadísticament significatives en comparació tant amb els nens amb sobrepès com amb els obesos. Els nivells de IgM eren superiors en nens prims en comparació amb nens amb obesitat (Figura 25).

Taula 14. Paràmetres antropomètrics i metabòlics del grup de pacients de l'estudi de Girona (immunoglobulines).

	Tots els individus (n=270)	Prims (IMC-SDS<1) (n=145)	No prims (IMC-SDS ≥1) (n=125)	p
Paràmetres antropomètrics				
Edat (anys)	8.4 ± 0.1	8.4 ± 0.1	8.5 ± 0.1	ns
Sexe femení (%)	45.4%	45.8%	44.8%	ns
Pes (Kg)	36.8 ± 1	29.0 ± 1	45.9 ± 1	<0.0001
Alçada (cm)	134 ± 1	133 ± 1	137 ± 1	<0.0001
IMC (kg/m ²)	20.1 ± 0.2	16.6 ± 0.2	24.1 ± 0.2	<0.0001
IMC-SDS	0.8 ± 0.1	-0.3 ± 0.1	2.1 ± 0.1	<0.0001
Perímetre abdominal (cm)	66 ± 1	58.3 ± 0.6	76.1 ± 0.7	<0.0001
TAs (mmHg)	31.0 ± 0.6	25.8 ± 0.8	37.9 ± 0.7	<0.0001
GIMc	107.1 ± 0.5	105.2 ± 0.7	109.7 ± 0.9	<0.0001
Massa grassa (%)	0.041 ± 0.001	0.038 ± 0.001	0.046 ± 0.001	<0.0001
Paràmetres metabòlics				
Glucosa (mg/dL)	87.2 ± 0.3	86.5 ± 0.4	88.1 ± 0.4	0.012
HDL-colesterol (mg/dL)	57 ± 1	63 ± 1	50 ± 1	<0.0001
TG (mg/dL)	64 ± 2	53 ± 2	77 ± 4	<0.0001
Insulina (mIU/L)	5.0 ± 0.3	3.1 ± 0.3	7.2 ± 0.4	<0.0001
HOMA-IR	1.1 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.6 ± 0.1	<0.0001
Adiponectina APM (mg/L)	7.7 ± 0.4	8.0 ± 0.4	7.3 ± 0.1	ns
PCRus (mg/L)	2.2 ± 0.2	1.5 ± 0.3	3.2 ± 0.4	0.002
AST (U/L)	30 ± 1	29.4 ± 0.6	31.8 ± 2.1	ns
ALT (U/L)	19 ± 1	16.7 ± 0.3	21.5 ± 0.7	<0.0001
GGT (U/L)	13 ± 1	11.9 ± 0.2	14.8 ± 0.4	<0.0001
IgG (mg/dL)	994 ± 13	963.9 ± 18.1	1029.3 ± 18.0	0.012
IgA (mg/dL)	113 ± 3	104.8 ± 3.6	122.9 ± 4.9	0.008
IgM (mg/dL)	94 ± 2	95.6 ± 3.4	92.8 ± 4.1	ns

Els resultats de les variables quantitatives s'expressen com a mitjana ± EEM. IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HDL-colesterol: colesterol de lipoproteïnes d'alta densitat; TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina;

PCRus: PCR ultrasensible; AST: aspartat aminotransferasa; ALT: alanina aminotransferasa; GGT: gammaglutamil transferasa; IgG: immunoglobulina G; IgA: immunoglobulina A; IgM: immunoglobulina M.

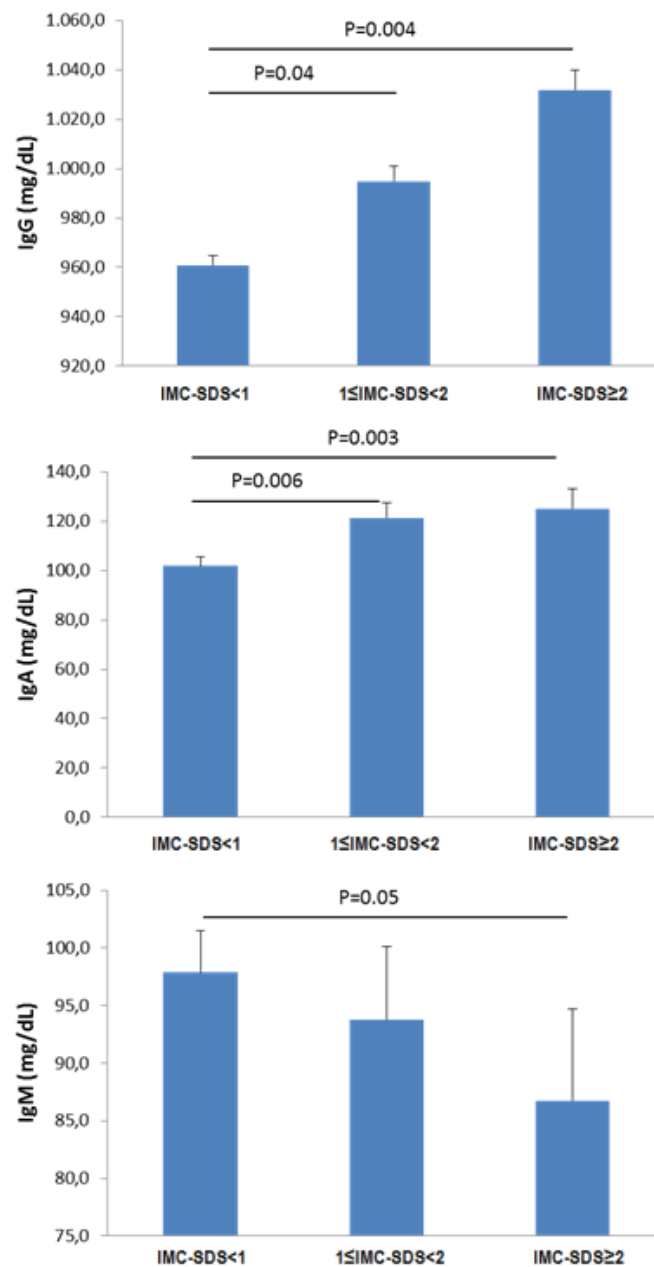


Figura 25. Gràfic de barres dels nivells d'IgG, IgA i IgM classificats segons l'IMC en prims (IMC-SDS<1), sobrepès (1≤IMC-SDS<2) i obesitat (IMC-SDS≥2). Els valors de la p es van obtenir mitjançant el test t-Student.

5.2.2 IGG

En tots els nens de l'estudi, l'increment d'IgG en sèrum s'associava amb un fenotip metabòlic menys favorable que consistia en valors més elevats d'insulina ($r=0.205$, $p=0.001$), d'HOMA-IR ($r=0.213$, $p<0.0001$) i de TG ($r=0.221$, $p<0.0001$) i més baixos d'HDL-colesterol ($r=-0.231$, $p<0.0001$). (Taula 15).

Taula 15. Correlació entre IgG i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes: IMC-SDS<1 i IMC-SDS≥1.

IgG	Tots els individus (n=270)		Prims (IMC-SDS<1) (n=145)		No prims (IMC-SDS≥1) (n=125)	
	r	p	r	p	r	p
Edat (anys)	0.134	0.028	0.145	ns	0.066	ns
Insulina (mIU/L)	0.205	0.001	0.158	ns	0.152	ns
HOMA-IR	0.213	<0.0001	0.164	ns	0.167	ns
TG (mg/dl)	0.221	<0.0001	0.119	ns	0.209	0.02
HDL-colesterol (mg/dL)	-0.231	<0.0001	-0.027	ns	-0.288	0.001
IgA (mg/dL)	0.364	<0.0001	0.310	<0.0001	0.406	<0.0001
IgM (mg/dL)	0.252	<0.0001	0.297	<0.0001	0.230	0.010

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina, TG: triglicèrids.

Taula 16. Correlació entre IgG i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes: IMC-SDS<2 i IMC-SDS≥2.

IgG	Sobrepès (1<IMC-SDS<2) (n=65)		Obesitat (IMC-SDS≥2) (n=60)	
	r	p	r	p
Edat (anys)	0.116	ns	0.017	ns
Insulina (mIU/L)	0.017	ns	0.294	0.02
HOMA-IR	0.014	ns	0.308	0.01
TG (mg/dl)	0.125	ns	0.333	0.01
HDL-colesterol (mg/dL)	-0.141	ns	-0.421	<0.0001
IgA (mg/dL)	0.526	<0.0001	0.303	0.02
IgM (mg/dL)	0.213	ns	0.262	0.045

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina. TG: triglicèrids.

Aquestes associacions no s'observaven en els nens prims però sí que en els nens no prims (Taula 15) i particularment en els nens obesos (IMC-SDS \geq 2).(Taula 16).

En els nens no prims, els valors d'IgG s'associaven positivament amb els triglicèrids ($r=0.209$, $p=0.02$) i negativament amb l'HDL-colesterol ($r=-0.288$, $p=0.001$) (Taula 14). En els nens obesos els valors IgG s'associaven positivament amb la insulina ($r=0.294$, $p=0.02$), l'HOMA-IR ($r=0.308$, $p=0.01$), els TG ($r=0.333$, $p=0.01$) i negativament amb HDL-colesterol ($r=-0.421$, $p<0.0001$).(Taula 15).

En l'anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió, els nivells d'IgG en nens obesos eren predictors independents de l'HOMA-IR ($\beta=0.308$; $p=0.017$), dels TG ($\beta=0.343$, $p=0.006$) i de l'HDL-colesterol ($\beta=-0.423$, $p=0.001$) i explicaven, en conjunt amb la resta de variables del model, un 9.5%, 25.7% i 25.2% de la seva variància, respectivament. (Taula 17 i Figura 26).

Taula 17. Anàlisi de regressió múltiple de les IgG com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.

	Sobrepès (1<IMC-SDS<2) (n=65)			Obesitat (IMC-SDS \geq 2) (n=60)		
	β	p	R ²	β	p	R ²
HOMA-IR						
IMC	0.300	0.015	0.09	--	--	0.095
IgG	--	--		0.308	0.017	
TG						
IMC	0.327	0.007	0.107	0.279	0.024	0.257
Sexe	--	--		0.273	0.028	
IgG	--	--		0.343	0.006	
HDL-colesterol						
IMC	-0.287	0.019	0.082	-0.284	0.017	0.252
IgG	--	--		-0.423	0.001	

Variables no predictives: edat i sexe. IMC: índex de massa corporal; IgG: immunoglobulina G.

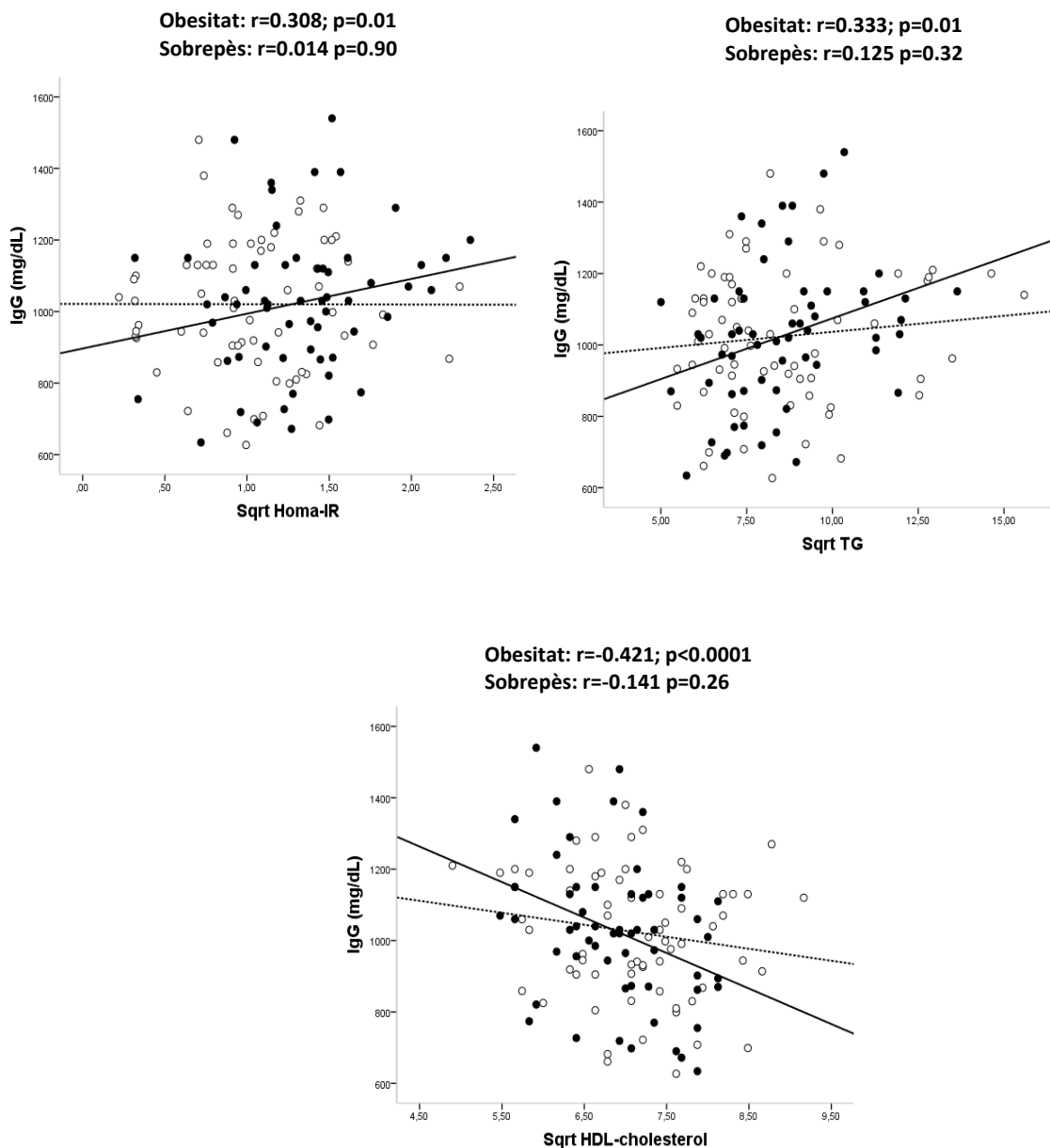


Figura 26. Correlació gràfica entre les IgG plasmàtiques i els factors de risc metabòlics en el grup dels pacients no prims en funció del seu pes.

Els punts blancs i les línies discontinües indiquen els pacients amb sobrepès ($1 < \text{IMC-SDS} < 2$) i els punts negres i les línies contínues els pacients obesos ($\text{IMC-SDS} \geq 2$). Els valors de r i de p corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. Sqrt: arrel quadrada.

5.2.3 IGA

En tots els nens de l'estudi, l'increment d'IgA en sèrum també s'associava amb un fenotip metabòlic menys favorable que consistia en valors més alts d'insulina ($r=0.198$, $p=0.001$), d'HOMA-IR ($r=0.204$, $p=0.001$) i de TG ($r=0.160$, $p=0.01$). (Taula 18).

Aquestes associacions no s'observaven en els nens primers però sí en els nens no primers (Taula 18) i particularment en els nens obesos (BMI-SDS \geq 2). (Taula 19).

En els nens no primers, els valors d'IgA s'associaven positivament amb la insulina ($r=0.175$, $p=0.05$) i amb l'HOMA-IR ($r=0.185$, $p=0.039$). (Taula 17). En els nens obesos els valors de IgA s'associaven positivament amb la insulina ($r=0.371$, $p=0.005$), l'HOMA-IR ($r=0.385$, $p=0.003$) i els TG ($r=0.349$, $p=0.008$). (Taula 19 i figura 27).

Taula 18. Correlació entre IgA i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes IMC-SDS <1 i IMC-SDS ≥ 1 .

IgA	Tots els individus (n=270)		Primers (IMC-SDS <1) (n=145)		No primers (IMC-SDS ≥ 1) (n=125)	
	r	p	r	p	r	p
Edat (anys)	0.199	0.001	0.221	0.008	0.198	0.027
Insulina (mIU/L)	0.198	0.001	0.092	ns	0.175	0.050
HOMA-IR	0.204	0.001	0.098	ns	0.185	0.039
TG (mg/dl)	0.160	0.010	0.090	ns	0.091	ns
HDL-colesterol (mg/dL)	-0.071	ns	-0.110	ns	-0.023	ns
IgM (mg/dL)	0.188	0.002	0.199	0.016	0.207	0.020

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina, TG: triglicèrids.

Taula 19. Correlació entre IgA i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes IMC-SDS <2 i IMC-SDS ≥ 2 .

IgA	Sobrepès (1<IMC-SDS<2) (n=65)		Obesitat (IMC-SDS ≥ 2) (n=60)	
	r	p	r	p
Edat (anys)	0.307	0.012	0.090	ns
Insulina (mIU/L)	0.085	ns	0.371	0.005
HOMA-IR	0.085	ns	0.385	0.003
TG (mg/dl)	0.032	ns	0.349	0.008
HDL-colesterol (mg/dL)	-0.035	ns	-0.048	ns
IgM (mg/dL)	0.254	0.039	0.128	ns

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina. TG: triglicèrids, IgM: immunoglobulina M.

En anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió, els nivells d'IgA en nens obesos eren predictors independents de l'HOMA-IR ($\beta=0.361$, $p=0.005$) i dels TG ($\beta=0.354$, $p=0.003$) i explicaven un 13%, i 30.7% de la seva variància respectivament. (Taula 20).

En nens amb sobrepès ($1 < \text{BMI-SDS} < 2$) els nivells d'IgA no eren variables predictives de l'HOMA-IR, dels TG ni de l'HDL-colesterol, sinó que aquestes variables dependents eren explicades per l'IMC.

Taula 20. Anàlisi de regressió múltiple de les IgA com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.

	Sobrepès ($1 < \text{IMC-SDS} < 2$) (n=65)			Obesitat ($\text{IMC} \geq 2$) (n=60)		
	β	p	R ²	β	p	R ²
HOMA-IR						
IMC	0.300	0.015	0.009	--	--	0.130
IgA	--	--		0.361	0.005	
TG						
IMC	0.285	0.024	0.081	0.328	0.007	0.307
Sexe	--	--		0.333	0.006	
IgA	--	--		0.354	0.003	

Variables no predictives: edat i sexe. IMC: index de massa corporal; IgA: immunoglobulina A.

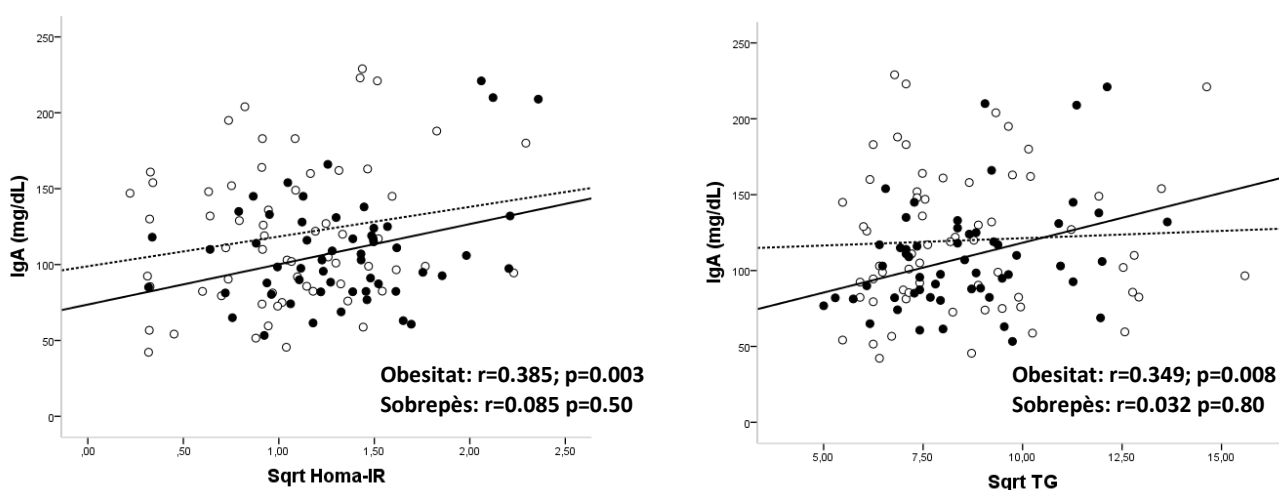


Figura 27. Correlació gràfica entre les IgA plasmàtiques i els factors de risc metabòlics en el grup dels pacients no primers en funció del seu pes. Els punts blancs i les línies discontinües indiquen els pacients amb sobrepès ($1 < \text{IMC-SDS} < 2$) i els punts negres i les línies contínues els pacients obesos ($\text{IMC-SDS} \geq 2$). Els valors de r i de p corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. Sqrt: arrel quadrada.

5.2.4 IGM

Per altra banda, els valors d'IgM s'associaven amb un perfil lipídic saludable. Concretament s'associaven negativament amb la insulina ($r=-0.123$, $p=0.043$), l'HOMA-IR ($r=-0.127$, $p=0.037$) i els TG ($r=-0.145$, $p=0.017$) i positivament amb l'HDL-colesterol ($r=0.163$, $p=0.007$). (Taula 21).

Aquestes associacions es perdien al separar per grups d'obesitat (taula 21 i taula 22) i només s'observava una associació significativa de IgM amb l'HDL-colesterol ($r=0.234$, $p=0.009$) en nens no primers, i una associació positiva amb l'HDL colesterol ($r=0.401$, $p=0.001$) i negativa amb els TG ($r=-0.271$, $p=0.027$) en nens amb sobrepès ($1 \leq \text{IMC-SDS} < 2$).

Taula 21. Correlació entre IgM i els paràmetres metabòlics en la població total i segons les categories de pes: IMC-SDS<1 i IMC-SDS≥1.

IgM	Tots els individus (n=270)		Primers (IMC-SDS<1)(n=145)		No primers (IMC-SDS≥1) (n=125)	
	r	p	r	p	r	p
Edat (anys)	0.028	ns	0.015	ns	0.063	ns
Insulina (mIU/L)	-0.123	0.043	-0.063	ns	-0.147	ns
HOMA-IR	-0.127	0.037	-0.065	ns	-0.152	ns
TG (mg/dl)	-0.145	0.017	-0.024	ns	-0.123	ns
HDL-colesterol (mg/dL)	0.163	0.007	0.057	ns	0.234	0.009

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina, TG: triglicèrids.

Taula 22. Correlació entre IgM i els paràmetres metabòlics segons les categories de pes IMC-SDS<2 i IMC-SDS≥2.

IgM	Sobrepès (IMC-SDS<2) (n=65)		Obesitat (IMC-SDS≥2) (n=60)	
	r	p	r	p
Edat (anys)	0.012	ns	0.139	ns
Insulina (mIU/L)	-0.164	ns	-0.003	ns
HOMA-IR	-0.159	ns	-0.020	ns
TG (mg/dl)	-0.271	0.027	0.123	ns
HDL-colesterol (mg/dL)	0.401	0.001	-0.053	ns

Els valors de la p i de la r corresponen a l'anàlisi de correlació de Pearson. HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina. TG: triglicèrids.

En anàlisi de regressió múltiple, ajustant per variables de confusió els nivells d'IgM en nens amb sobrepès eren predictors independents dels nivells de TG en sèrum ($B=-0.233$, $p=0.049$) i d'HDL-colesterol ($B=0.378$, $p=0.001$) i explicaven un 16% i 22.5% de la seva variància, respectivament. (Taula 23).

Taula 23. Anàlisi de regressió múltiple de les IgM com a variable dependent en nens amb sobrepès i obesitat.

	Sobrepès (IMC-SDS<2) (n=65)			Obesitat (IMC>2) (n=60)		
	β	p	R ²	β	p	R ²
TG						
IMC	0.305	0.011	0.160	0.314	0.012	0.188
Sexe	--	--		0.344	0.006	
IgM	-0.233	0.049		--	--	
HDL-colesterol						
IMC	-0.252	0.027	0.225	-0.270	0.039	0.073
IgM	0.378	0.001		--	--	

Variables no predictives: edat i sexe. IMC: índex de massa corporal; IgM: immunoglobulina M.

DISCUSSIÓ

6 DISCUSSIÓ

Durant els últims anys, els investigadors han evidenciat que el sistema immunològic està molt relacionat amb el metabolisme i el control de pes. Els darrers estudis apunten a l'existència d'una relació i/o interacció bilateral entre el sistema immunitari i el metabolisme, en el qual alguns components del sistema immunitari evolucionarien i tindrien la capacitat de “comunicar-se” amb el teixit adipós en temps d'adversitat, per tal d'alterar el metabolisme del cos⁸⁹.

Aquesta tesi aporta nous resultats en l'estudi de la interacció entre el sistema immunitari innat i adquirit, l'obesitat i els marcadors de risc cardiometabòlic en la població pediàtrica.

6.1 IMMUNITAT INNATA, OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN NENS PREPUBERALS

Les nostres troballes indiquen que tant les α -defensines com les BPI estan relacionades amb l'obesitat i amb marcadors de risc cardiometabòlic en nens. A més, les α -defensines podrien ser nous marcadors predictors de l'índex de massa corporal i de distribució de greix abdominal en nens.

6.1.1 ASSOCIACIÓ ENTRE ELS NIVELLS CIRCULANTS DE LES α -DEFENSINES AMB OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN NENS PREPUBERALS.

Les α -defensines són pèptids proinflamatoris secretats pels neutròfils que es correlacionen amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlic en adults (Figura 28).

A) α -defensines i obesitat

Durant els darrers anys s'ha constatat la secreció de les α -defensines pel teixit adipós i s'ha descobert que els adipòcits del teixit adipós dels epiplons també secretaven α -defensines 1-3¹⁹⁰.

En treballs realitzats amb ratolins alimentats amb una dieta rica en greixos comparats amb d'altres alimentats amb dieta normal, s'ha observat que la proporció de neutròfils en el teixit adipós visceral dels ratolins alimentats amb dieta rica en greixos s'incrementava ja al tercer dia de l'alimentació i es mantenia fins a les 12 setmanes^{140,141}.

Estudis realitzats en pacients adults amb sobrepès o obesitat mostren increments de reactants de fase aguda com els leucòcits.

En aquesta mateixa línia s'han publicat articles que descriuen un increment de neutròfils en el teixit adipós dels epiplons de pacients amb obesitat que disminueixen després d'una cirurgia gàstrica¹⁹¹. Altres treballs publicats en adults, descriuen una associació positiva entre els neutròfils i el perímetre abdominal¹³⁹. En un estudi americà fet amb 6766 pacients entre 25 i 55 anys, troben una correlació entre l'increment del nombre de leucòcits i el perímetre abdominal.

Els nostres resultats mostren que els nens amb sobrepès i obesitat presenten valors més alts de les α -defensines que els nens primers. Aquests resultats estan d'acord amb estudi previ realitzats en adults que mostren associacions entre l'obesitat i nivells més alts de les α -defensines. En un estudi realitzat en dones obeses i malaltia hepàtica grassa no alcohòlica, abans i després de la pèrdua de pes induïda per cirurgia, es constatà que la pèrdua de pes s'associava clarament a la disminució dels nivells de les α -defensines¹⁹².

En aquest sentit, en el nostre estudi transversal hem trobat que les α -defensines també es relacionen amb paràmetres d'obesitat com ara major IMC, massa grassa, perímetre abdominal i menor adiponectina d'APM (Figura 28). En l'anàlisi multivariant, el perímetre abdominal és una variable predictora dels valors de les α -defensines i explica el 14% de la seva variància. A més a més, també hi ha estudis que demostren que les concentracions d'aquesta hormona en el torrent sanguini es correlacionen negativament tant amb la mida dels adipocits com amb el percentatge de greix corporal²¹⁻²⁴.

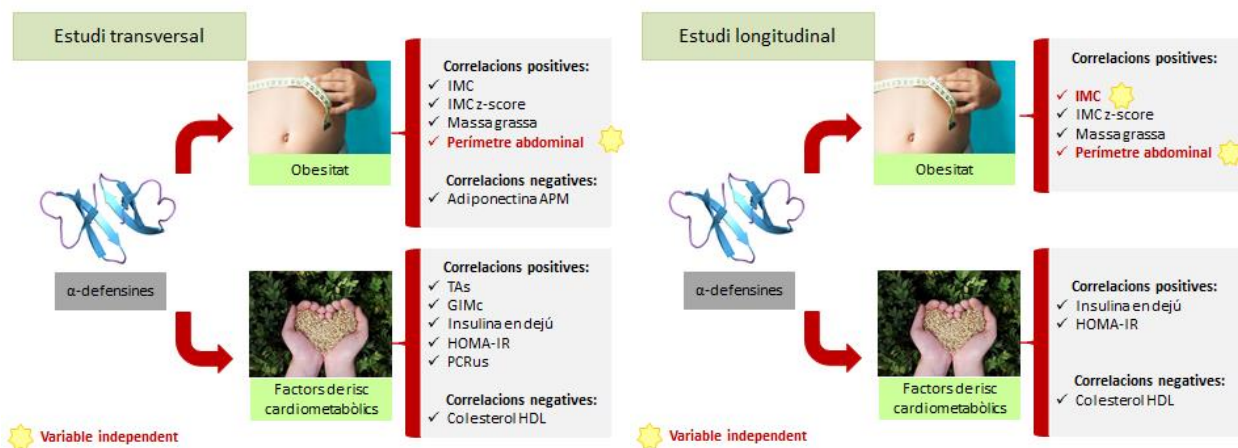


Figura 28. Esquema proposat entre els nivells circulants de les α -defensines amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en nens prepuberals.

IMC: índex de massa corporal; IMC-SDS: índex de massa corporal segons desviació estàndard; adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; TAs: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HOMA-1R: model de mesura de la resistència a la insulina; PCRus: proteïna C reactiva d'alta sensibilitat. Figura realitzada per l'autora.

B) α -defensines i factors de risc cardiometabòlics

En el nostre estudi transversal hem trobat que les α -defensines també es relacionen amb paràmetres cardiometabòlics com major TAS, GIMc, insulina, HOMA-IR, PCRus i menor HDL.

Aquests resultats estan en acord amb estudis previs que mostren que les α -defensines humanes, estan associades amb el colesterol sèric i la reactivitat vascular i poden tenir implicacions clíniques en pacients amb hipercolesterolèmia o bé en la disfunció vascular¹³⁶. A més a més, durant els darrers anys, s'han publicat treballs realitzats amb pacients adults amb hiperlipidèmia, que han evidenciat un increment dels nivells de les α -defensines en aquests pacients, postulant-se l'augment d'expressió de les α -defensines com un potencial marcador inflamatori per predir el risc de desenvolupar malaltia coronària en pacients amb dislipidèmies¹³³.

Estudis en ratolins van comprovar que les α -defensines podien modificar la composició i les concentracions de LDL i promoure la seva disposició a nivell vascular (fins i tot amb nivells plasmàtics baixos de colesterol)¹⁴⁴. Estudis també amb rosegadors, van demostrar l'efecte protector de les α -defensines 1 (DEFA1) en facilitar la interacció i l'aclariment del colesterol LDL¹⁴³.

Altres estudis en humans van estudiar si les defensines modulaven la unió i el catabolisme de les molècules de LDL en les cèl·lules vasculares. Es va concloure que les α -defensines alliberades pels neutròfils activats podien proporcionar una relació entre la inflamació i l'aterosclerosi en canviar el patró de catabolisme de les LDL, retardar la seva degradació i promoure per tant la seva acumulació¹⁴². També es va reiterar que podien afavorir l'acumulació de lipoproteïna (a)¹⁹³ en lesions ateroescleròtiques i produir modificacions en l'endoteli i en la matriu extracel·lular. Es coneix que presenten una activitat protrombòtica (en inhibir l'activació del plasminogen), interfereixen amb la funció de la cèl·lula del múscul llis vascular i juguen un paper inhibitori en diverses fases de l'angiogènesi (Figura 29)^{194, 195}.

Així mateix, partint de la base que les lesions ateroescleròtiques humanes contenen α -defensines humanes i que les α -defensines alliberades pel neutròfils activats poden proporcionar una relació entre la inflamació i l'aterosclerosi en canviar el patró de catabolisme del colesterol LDL¹⁴², cal considerar la importància que tenen aquestes proteïnes en el risc cardiovascular. En estudis fets amb mostres vasculares de cors humans extretes durant el moment del transplantament i anticossos anti-defensines de conill, es va constatar que les defensines eren presents en l'endoteli i en les cèl·lules musculars llises de les parets de les artèries coronàries humanes. Això va fer entreveure que les defensines podien tenir un paper no només de defensa sinó també en la fisiopatologia de la inflamació¹⁹⁶.

Per tant, tots aquests estudis, demostren que les α -defensines, a part de la seva funció defensiva, participen en la formació de les plaques d'aterosclerosi (Figura 29).

A més a més, si tenim presents les correlacions entre els nivells de les α -defensines 1-3 i el colesterol sèric que s'han objectivat en estudis de factors de risc cardiovascular realitzats en pacients amb hiperlipidèmia¹³³, podem postular que les α -defensines poden esdevenir una peça vital, també com a factor pronòstic per valorar els pacients de risc cardiovascular que presenten inflamació però encara no han desenvolupat aterosclerosi¹⁴⁴.

Si bé existeixen nombroses publicacions en la població adulta que avalen aquests resultats, també trobem estudis realitzats en població adulta on es descriu una associació negativa i no positiva, entre els nivells de les α -defensines i el perfil lipídic, l'obesitat i la reactivitat vascular¹³⁶.

Un d'ells, avalua factors de risc cardiovascular (perfil lípid, resistència a la insulina) i nivells α -defensines 1-3 en sang en un grup de 113 homes aparentment sans i avalua també, en un subgrup d'aquests (52 individus), la reactivitat vascular mitjançant la realització d'ecografia d'alta resolució a nivell de l'artèria braquial¹³⁶.

Els resultats constaten que els pacients amb nivells més elevats de les α -defensines són més prims, més sensibles a la insulina i amb uns nivells inferiors de colesterol LDL total respecte als pacients amb nivells més baixos de α -defensines. Així mateix, els pacients amb nivells més elevats de α -defensines tenen major vasodilatació arterial independent de l'endoteli (associació que no s'explica per l'edat, l'índex de massa corporal, el colesterol en sèrum, la sensibilitat a la insulina, o el tabac).

Però, a diferència d'aquests resultats, s'han publicat estudis en pacients adults amb patologia vascular de base, malaltia arterial perifèrica i malaltia coronària que contrasten amb aquestes dades^{137,138}.

En treballs realitzats en pacients amb patologia vascular de base (malaltia arterial perifèrica¹³⁷ i malaltia coronària¹³⁸ s'han trobat nivells més elevats de les α -defensines que en població sana i s'ha postulat que aquestes podrien actuar com a factors de pronòstic cardiovascular a llarg termini. Així mateix, en estudis amb pacients amb malaltia arterial perifèrica d'extremitats inferiors, es va concloure que els nivells elevats de les α -defensines en sèrum es correlacionaven amb un risc 5 vegades més gran de mortalitat cardiovascular¹³⁷. A més, en altres treballs realitzats amb pacients amb malaltia coronària en què s'estudiaven els nivells de les α -defensines a través de biòpsia cutània extreta abans de la cateterització d'artèries coronàries, es va concloure que les α -defensines podrien ser predictors independents de la gravetat de les malalties d'artèries coronàries¹³⁸.

Tot i la discrepància dels resultats publicats entre l'associació dels nivells de les α -defensines i els factors de risc cardiovasculars, no podem excloure la possibilitat de que aquesta associació negativa trobada en alguns estudis¹³⁶ entre els nivells de les α -defensines i l'obesitat, es pugui explicar degut a l'increment ja comentat de les α -defensines en la paret vascular dels pacients obesos.

A més a més, cal tenir en compte que el nostre estudi és en nens prepuberals i els estudis amb correlacions negatives són amb pacients adults i amb obesitat, on possiblement el grau més crònic d'inflamació ha jugat un paper important.

Caldran altres estudis en nens amb factors de risc cardiovasculars per estudiar les associacions clíniques entre els nivells de les α -defensines i els marcadors de risc vascular en nens.

Estudis en pacients amb diabetis mellitus (tipus 1 i tipus 2) han demostrat nivells més elevats de les α -defensines que no pas el grup de pacients sans¹³⁴. Si ens fixem concretament en els pacients afectes de diabetis mellitus tipus 1, les α -defensines poden servir també com a marcador de risc clínic per la morbiditat relacionada amb malalties cardiovasculars i amb la mortalitat associada a aquest grup de pacients¹³⁵.

En el nostre estudi longitudinal, les α -defensines s'associen amb l'IMC i amb el perímetre abdominal al seguiment, suggerint que les α -defensines poden predir la distribució de greix abdominal en nens. No hem trobat estudis longitudinals en nens que puguin avalar els nostres resultats.

En resum, totes aquestes dades, recolzen els nostres resultats sobre l'associació de les α -defensines amb factors de risc cardiovascular i suggereixen, que les α -defensines podrien ser un nou marcador de risc cardiovascular en nens, indicatives d'un increment de neutròfils en l'obesitat central.

Són necessaris més estudis longitudinals en nens amb i sense obesitat per comprovar les nostres troballes.

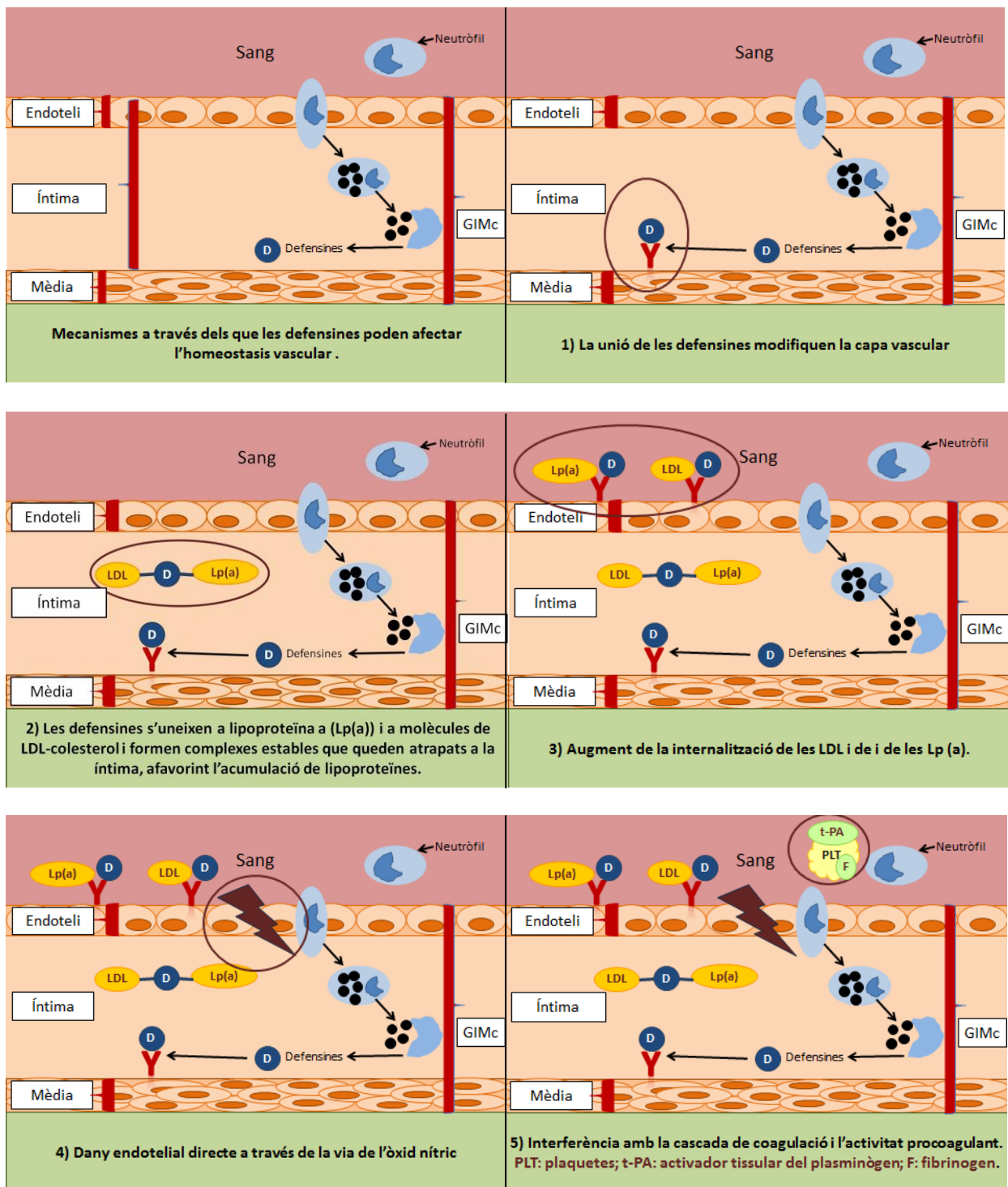


Figura 29. Proposta dels diferents mecanismes d'afectació de l'homeòstasi vascular per part de les defensines. GIMc: gruix de la íntima-mèdia. Imatge realitzada per l'autora.

6.1.2 ASSOCIACIÓ ENTRE ELS NIVELLS CIRCULANTS DE BPI AMB OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN NENS PREPUBERALS.

La BPI és un pèptid antimicrobià secretat principalment pels neutròfils i amb propietats antiinflamatòries¹⁹⁷.

A diferència de moltes altres molècules de defensa, la BPI té un efecte específic sobre els bacteris gram-negatius i sobre els lipopolisacàrids. Aquesta propietat específica, ha fet que es publicuessin molts estudis per avaluar l'efecte de BPI recombinant en models experimentals de sèpsia en conills, rates, porcs i ratolins¹⁹⁸⁻²⁰⁴.

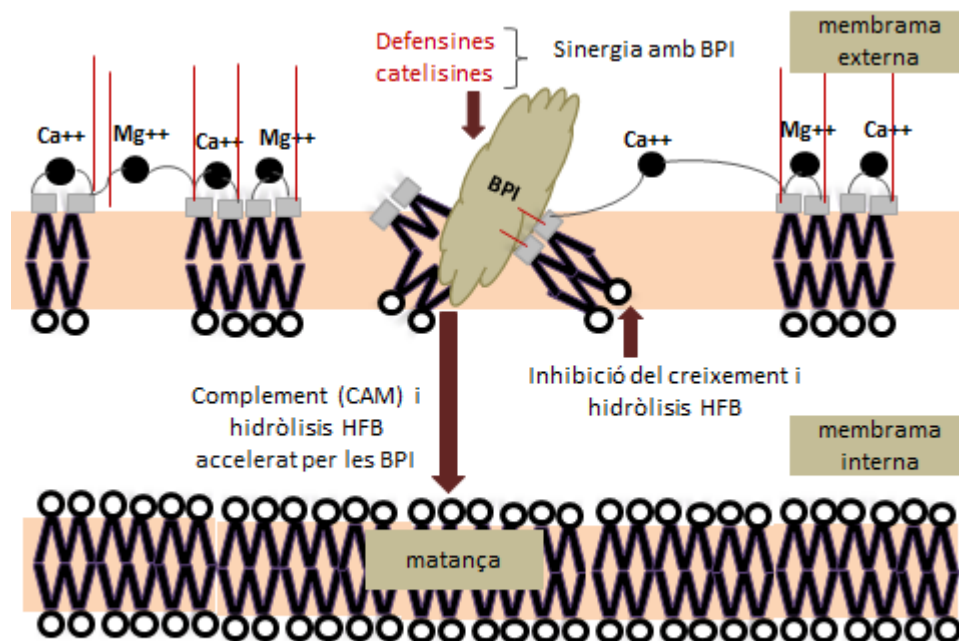


Figura 30. Actuació de la BPI a nivell de les membranes de les bacteries gram negatives.

Es representen les membranes externa i interna del bacteri gram negatiu. Es creu que en unir-se els residus carregats positivament de l'extrem N de les BPI als fosfats dels lipopolisacàrids (LPS) carregats negativament, desplacen cations divalents que normalment estableixen la membrana externa. També hi contribueixen les interaccions hidrofòbiques de lípids de les BPI a cadenes d'acil dels LPS. Els primers efectes de les BPI sobre els bacteris són la inhibició del creixement i l'activació de la hidròlisi dels fosfolípids bacterians (HFB) ajudats per les defensines i les catelicidines. La mort dels bacteris requereix la penetració de la BPI a la membrana interna, un procés que s'accelera amb el complex d'atac de membrana del complement (CAM) així com mitjançant la hidròlisi de fosfolípids bacterians. Imatge realitzada per l'autora.

La BPI té llocs d'unió a lípids i per tant, pot actuar com a proteïna transportadora de lípids. Hi ha estudis que correlacionen els nivells plasmàtics BPI amb nivells de colesterol total, colesterol HDL i LDL¹⁵⁹. D'altres els correlacionen amb factors de risc cardiovascular (envelliment, obesitat, diabetis i malalties coronàries)¹³².

Estudis publicats en la literatura han demostrat que la BPI intervé en la inhibició dels neutròfils, l'estimulació de monòcits²⁰⁵, la formació de citoquines²⁰⁶, la inhibició de la lesió cel·lular endotelial vascular i l'activació de l'angiogènesi²⁰⁷.

A) BPI i obesitat

En estudis on s'avaluava l'activació dels neutròfils en pacients obesos i l'efecte de la cirurgia bariàtrica sobre l'activació dels neutròfils es va observar una correlació positiva entre la major activació dels neutròfils i l'obesitat. Aquestes dades, ja comentades a l'apartat anterior, donen suport a l'associació entre l'activació del sistema immunitari innat i l'obesitat. A més a més cal recordar que els neutròfils tenen una vida útil curta, fet que suggereix que la condició inflamatòria crònica associada a l'obesitat mòrbida es caracteritza per una activació continuada del sistema immunitari innat²⁰⁸.

En els darrers anys, s'han publicat alguns estudis que demostren una possible associació entre la BPI i els factors de risc cardiovascular i metabòlic. Alguns d'ells demostren el paper protector de la BPI en pacients amb obesitat^{160,161}.

Les nostres troballes reforcen aquesta idea, ja que en la secció transversal del nostre estudi, hem descrit que els nivells de BPI s'associen positivament amb un fenotip metabòlic i cardiovascular més favorable (menys IMC, massa grassa i perímetre abdominal) (Figura 31). Aquestes dades coincideixen amb les obtingudes en persones adultes^{160,161}. Però en fer l'anàlisi de regressió múltiple ajustant per variables de confusió només el perímetre abdominal ha estat una variable independent, possiblement per la interacció metabòlica que tenen entre sí els altres factors d'obesitat i de risc cardiovascular.

Tot i això, en el seguiment longitudinal no hem trobat cap associació significativa entre els nivells en sèrum de BPI i paràmetres de risc cardiovascular i metabòlic.

En la literatura es descriuen molts estudis sobre el paper de la BPI en la immunitat innata i sobre la seva interacció amb bacteris gram negatius, però molt pocs sobre el seu paper en el metabolisme i els factors de risc cardiovascular. Creiem que són necessaris més estudis per acabar d'entendre quina és la seva interacció en tot el procés metabòlic.

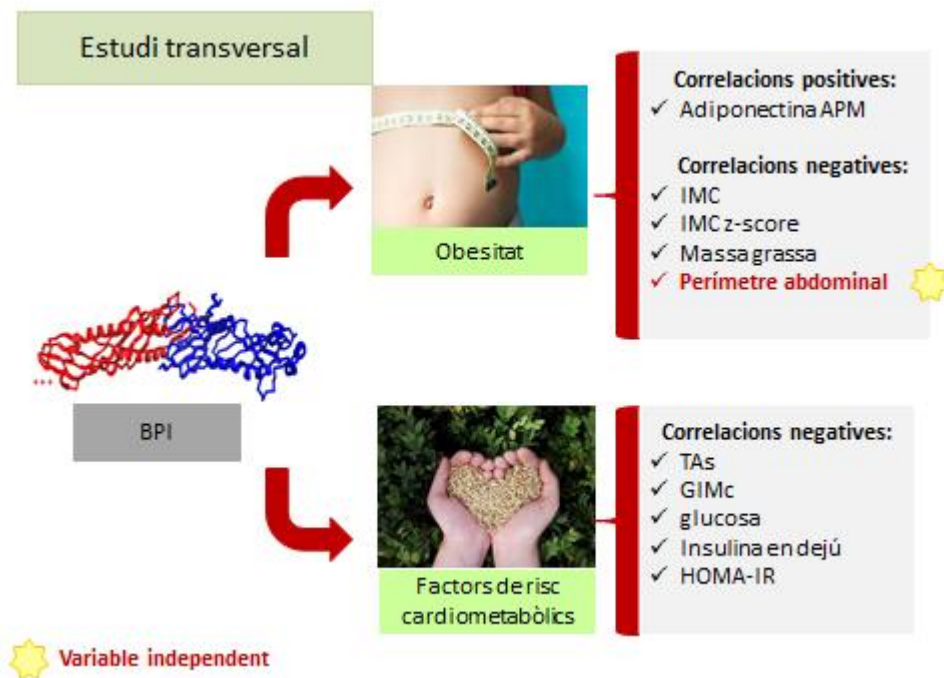


Figura 31. Associació entre els nivells circulants de BPI amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en l'estudi transversal de nens prepuberals.

Adiponectina APM: adiponectina d'alt pes molecular; IMC: índex de massa corporal; IMC z-score: índex de massa corporal segons desviació estàndard; TAS: tensió arterial sistòlica; GIMc: gruix de la íntima-mèdia de la caròtida; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina. Figura realitzada per l'autora.

B) BPI i altres factors de risc cardiovascular:

La BPI també s'han relacionat negativament amb altres factors de risc cardiovascular com la tolerància a la glucosa i els lípids^{160, 161}.

En un estudi amb 174 pacients no obesos es van estudiar les concentracions de BPI segons els nivells de tolerància a la glucosa. Els resultats van demostrar una correlació negativa entre els nivells de BPI i l'IMC en el grup dels pacients amb diabetis tipus 2. També es va constatar una correlació negativa entre els nivells de BPI en sang i els nivells de glucosa en dejú i després de l'administració de glucosa i amb les concentracions d'insulina. Totes aquestes troballes reforcen l'associació descrita entre la BPI i el metabolisme energètic¹⁶⁰.

En pacients obesos i amb diabetis mellitus tipus 2, alguns treballs han correlacionat els nivells plasmàtics de BPI amb la sensibilitat a la insulina i amb les concentracions de colesterol HDL. Així mateix s'ha trobat una correlació negativa entre la BPI i altres paràmetres metabòlics com la relació cintura-maluc, el perímetre abdominal o els nivells de TG en dejú¹⁶¹.

Es postula que la BPI també podria constituir un biomarcador de metabolisme dels lípids en subjectes amb tolerància normal a la glucosa i que podria ajudar a identificar aquells subjectes amb la funció endotelial conservada¹⁵⁹. En un estudi amb 202 homes no fumadors es van avaluar els nivells de BPI en sang i es van correlacionar amb marcadors del metabolisme dels lípids. En un subgrup de 91 subjectes es va avaluar també la reactivitat vascular braquial. Les concentracions plasmàtiques de BPI es van associar positivament amb marcadors del metabolisme lipídic (colesterol total, colesterol LDL i colesterol HDL) i també amb la vasodilatació dependent de l'endoteli en subjectes amb tolerància normal a la glucosa¹⁵⁹.

La BPI també té una activitat inhibidora de l'angiogènesi mitjançant la inducció específica de l'apoptosi de cèl·lules endotelials¹⁶³.

En treballs realitzats amb pacient afectes de malaltia coronària greu s'ha trobat que la BPI es correlaciona inversament amb la severitat de les alteracions i pot ser un bon biomarcador per a l'estenosi coronària severa¹⁶².

En la secció transversal del nostre estudi, hem trobat unes associacions aparentment protectores de la BPI amb una correlació positiva entre els seus nivells en sang i un fenotip metabòlic i cardiovascular més favorable (menys glucosa, insulina, HOMA-IR i GIMc). Aquestes dades coincideixen amb les obtingudes en subjectes adults^{160,161,162,174}. Però en fer l'anàlisi de regressió múltiple ajustant per variables de confusió cap d'aquests paràmetres metabòlics es va mantenir com a variable independent, possiblement per la interacció metabòlica que tenen sí els altres factors d'obesitat i de risc cardiovascular (Figura 31).

Així mateix, en el seguiment longitudinal no hem trobat cap associació significativa entre els nivells en sèrum de BPI i paràmetres de risc metabòlic.

En definitiva, les nostres troballes coincideixen amb les descrites a la literatura, i reforcen el paper protector de la BPI en els pacients amb factors de risc cardiovascular i en el procés d'inflamació que comporta la síndrome metabòlica.

Per tant, tot i que tradicionalment l'àmbit d'estudi de les BPI ha estat en el context de la seva interacció amb els bacteris gram negatius, aquests resultats ens obren una porta a desenvolupar nous treballs per avaluar la seva interacció amb els factors de risc cardiometabòlic sobretot a nivell pediàtric.

6.2 ASSOCIACIÓ ENTRE ELS NIVELLS CIRCULANTS D'IMMUNOGLOBULINES (IGG, IGM I IGA) AMB OBESITAT I FACTORS DE RISC CARDIOMETABÒLIC EN NENS PREPUBERALS

Durant els darrers anys, la inflamació crònica produïda pel teixit adipós visceral s'ha acceptat com a promotor principal de la resistència a la insulina en l'obesitat. Estudis recents ha evidenciat l'associació entre cèl·lules dels sistema immunitari adaptatiu (sobretot limfòcits T i B) i la promoció i modulació de la resistència a la insulina²⁰⁹⁻²¹¹.

A) Immunoglobulines i obesitat:

Hi ha àmplia literatura que reforça l'associació entre el sistema immunitari adaptatiu, el teixit adipós i per tant l'obesitat.

En un estudi amb ratolins alimentats amb una dieta alta en greixos, es va trobar un increment de les cèl·lules T CD8 (+) en el teixit adipós epididimari. Aquest increment de les cèl·lules T CD8 (+) es va correlacionar amb l'acumulació de macròfags i així mateix, la disminució pertinent d'aquestes cèl·lules T CD8 (+) es va correlacionar també amb la disminució de la infiltració dels macròfags i de la inflamació del teixit adipós (millorant, per tant, la resistència sistèmica a la insulina). A més a més, la transferència artificial de cèl·lules T CD8 (+) a ratolins amb dieta restrictiva també va evidenciar que agreujava el procés d'inflamació del teixit adipós. Aquests experiments in vitro van revelar un cicle viciós d'interaccions entre les cèl·lules T CD8 (+), els macròfags i el teixit adipós. Totes aquestes troballes suggereixen que el teixit adipós obès activa les cèl·lules T CD8 (+), les quals, al seu torn, promouen el reclutament i l'activació dels macròfags en el teixit. Aquests resultats donen suport a la noció que les cèl·lules T CD8 (+) tenen un paper essencial en la iniciació i propagació de la inflamació del teixit adipós²⁰⁹.

En aquesta mateixa línia, en estudis en el teixit adipós visceral de ratolins amb obesitat induïda per la dieta es va veure que tenien un nombre incrementat de cèl·lules T (T CD4+ i CD8+) respecte als controls primis. L'estimulació in vitro d'aquestes cèl·lules T del teixit adipós visceral produïen més interferó gamma que no pas l'estimulació de les cèl·lules T del grup control. A més a més, el teixit adipós dels animals obesos tenien més cèl·lules que expressaven uns antígens d'histocompatibilitat implicats en la presentació d'antígens (I-A (b) marcador d'histocompatibilitat de classe II). Tots aquests resultats indiquen de nou, la importància de les cèl·lules T i IFN γ , en la regulació de la resposta inflamatòria que acompanya l'obesitat²¹⁰.

A part de la implicació dels limfòcits T en la regulació de la resposta inflamatòria i dels factors de risc cardiovasculars, també s'han descrit estudis que indiquen la implicació de les cèl·lules B²¹¹. En estudis realitzats en ratolins obesos, es va detectar la presència de limfòcits B en l'estroma vascular del teixit adipós (a part d'altres cèl·lules del sistema immunitari com les cèl·lules T $\alpha\beta$, les cèl·lules natural Killer (NK) i les

cèl·lules $\gamma\delta$ T. Els $\alpha\beta$ i $\gamma\delta$ son receptors de la superfície dels limfòcits T que permeten el reconeixement de l'antigen. Aquests receptors són heterodímers amb una cadena α i una altra de β en cas dels limfòcits $\alpha\beta$ i amb una cadena γ i una cadena δ en els limfòcits $\gamma\delta$)²¹².

Així mateix, es va descriure que els limfòcits del teixit adipós de diferents localitzacions (inguinal i epidídim) mostraven un fenotip del sistema immunitari diferent. En el greix de l'epidídim hi havia cèl·lules més ancestrals (majoria de NK, cèl·lules T $\gamma\delta$) mentre que en el greix inguinal el sistema immunològic presentava característiques més adaptatives (nivells més alts de cèl·lules T $\alpha\beta$ i cèl·lules B)²¹². Aquestes dades van començar a donar suport a la noció que el teixit adipós pot elaborar mecanismes immunològics per regular les seves funcions que poden estar alterats en l'obesitat.

En altres estudis es va demostrar que els limfòcits B CD19+ eren les primeres cèl·lules reclutades pel teixit adipós visceral dels ratolins alimentats amb una dieta alta en greixos, seguides per les cèl·lules T CD3 + i després pels macròfags¹⁷¹.

El més interessant és que els limfòcits B poden produir anticossos IgG dirigits a diferents proteïnes pròpies¹⁷⁹. Estudis en el teixit adipós de ratolins amb obesitat induïda per la dieta constaten que els ratolins que tenen aquest tipus d'obesitat però manquen limfòcits B (sotmesos a tractaments amb anticossos contra els limfòcits B) guanyen pes però no produeixen el fenomen de producció d'anticossos que produeixen els ratolins amb obesitat induïda per la dieta que tenen mantinguda l'expressió de limfòcits B. Això suggereix que l'augment de l'adipositat pot conduir a respostes autoimmunitaris lleus associades a la producció d'autoanticossos.

En el nostre estudi, hem trobat una associació entre els nivells circulants d'IgG i IgA i els nens prepúbbers amb obesitat, però aquesta correlació no s'ha trobat en el grup de nens prepúbbers amb sobrepès. Per tant, aquesta associació sembla que només sigui aparent en el grup de pacients que presenten un fenotip metabòlic menys favorable amb un perfil lipídic més advers (Figura 32).

En la literatura, s'han descrit diversos estudis que demostren l'associació entre obesitat i concentracions més elevades d'IgG i IgA¹⁸⁰. Un estudi fet en adults espanyols on s'han estudiat els nivells d'immunoglobulines en sang (IgA, IgG i IgM) amb factors demogràfics com l'edat i el sexe i amb la presència d'alteracions metabòliques (com la síndrome metabòlica) s'ha descrit un increment també dels nivells d'IgA en pacients obesos (no en pacients amb sobrepès). Així mateix, també s'ha constatat un increment d'IgA i d'IgG associats amb l'edat, fet que s'atribueix a l'increment de les condicions inflamatòries cròniques que condiciona l'enveliment¹⁸⁰. Així mateix, en dones amb sobrepès alimentades amb dietes baixes o riques en greixos, es va constatar que la restricció energètica s'associava a una disminució significativa dels nivells en sèrum d'IgA i d'IgG²¹³.

En aquesta mateixa línia, s'han descrit estudis que demostren l'associació entre els nivells d'immunoglobulines en sang i el pes corporal. En pacients obesos sotmesos via laparoscòpica a la col·locació d'una banda gàstrica ajustable amb controls seriats d'immunoglobulines sèriques abans i després de l'operació (3 mesos i 12 mesos) s'ha constatat una disminució global dels nivells d'immunoglobulines (IgG i IgM ja als 3 mesos i IgA en el control dels 12 mesos de la intervenció) coincidint amb la progressiva disminució del pes i de l'IMC¹⁷⁰.

Així mateix, estudis realitzats en pacients obesos sotmesos a dejuni, evidencien una disminució en sèrum dels nivells de leucòcits i de les cèl·lules T i B¹⁷⁵. Fins i tot en estudis realitzats en pacients obesos durant l'embaràs i el puerperi, s'ha constatat un increment global d'IgA tant a nivell plasmàtic com en el calostre¹⁷⁵.

A part d'estudis d'adults, també s'han descrit estudis en nens on s'ha demostrat associació entre els nivells d'IgG i IgA amb l'obesitat. En nens amb obesitat (156 nens amb obesitat vs 40 nens sans) s'ha evidenciat un increment en sèrum dels limfòcits B i dels nivells d'IgA⁵¹.

Fent referència als nivells d'IgM, en pacients adults obesos s'ha evidenciat un increment del nombre de leucòcits i una disminució del nombre d'IgM en sang¹⁷³. En nens prepuberals amb i sense sobrepès, Okamatsu et al. (2009) va reportar també una disminució dels nivells d'IgM en sèrum en el grup de nens amb sobrepès.

En el nostre estudi, els nivells sèrics d'IgM s'han associat amb un perfil lipídic més saludable (només en el grup de pacients amb sobrepès, no en el grup de pacients amb obesitat) (Figura 32).

Tots aquests resultats, reforcen, com en el nostre estudi, l'associació de les IgG i IgA i no de les IgM, amb el risc cardiovascular i metabòlic.

Per altra banda, també s'ha vist, que en subjectes amb sobrepès, els components específics de la microbioma intestinal poden estar implicats en l'augment dels nivells d'immunoglobulines^{215,216}.

Com ja hem comentat, l'obesitat induïda per una dieta rica en greixos s'associa amb el procés d'inflamació. La majoria dels estudis publicats s'han centrat en el teixit adipós com la font de la inflamació associada a l'obesitat. Però, durant els darrers temps, s'ha incrementat l'evidència de la implicació dels bacteris intestinals en el desenvolupament de l'obesitat induïda per la dieta.

Un estudi realitzat en ratolins alimentats amb dieta rica o baixa en greixos va provar la hipòtesis que la dieta rica en greixos i els bacteris de la flora intestinal interactuen i promouen la inflamació intestinal, responsable de la resistència a la insulina i la progressió de l'obesitat²¹⁵.

En aquest aspecte, la IgA representa l'isotip d'anticòs més produït a la mucosa intestinal. Ja sabem, que la IgA és secretada en resposta a la colonització intestinal i que juga un paper important en la limitació de la penetració dels bacteris intestinals comensals²¹⁶.

Per que fa a la IgG, estudis realitzats en pacients diabètics (primis, amb sobrepès i amb obesitat) i extractes d'E. coli potencialment patògens, es va constatar que els individus obesos mostraven nivells més elevats d'IgG contra els extractes d'E. coli²¹⁷. Seguint en aquesta línia, estudis amb ratolins lliures de gèrmens van demostrar ser més resistents a la inflamació i a l'obesitat induïda per la dieta que altres ratolins normals²¹⁵.

Amb aquestes dades especulem que, almenys parcialment, els resultats del nostre estudi poden ser explicats per una resposta immunitària adquirida originada a la microbiota intestinal.

Però a part de tots aquests resultats, s'han publicat altres estudis que descriuen la implicació de l'hormona leptina (reguladora de la gana) en l'activació de diferents molècules del sistema immunitari. Així doncs, especulem que també podria jugar un paper en la interacció entre el sistema immunitari i els marcadors cardiometabòlics pediàtrics^{214,218}.

El que sí que podem afirmar és que l'augment dels nivells circulants d'IgG i d'IgA en nens amb sobrepès s'associen a un fenotip metabòlic menys favorable, sobretot en nens amb obesitat.

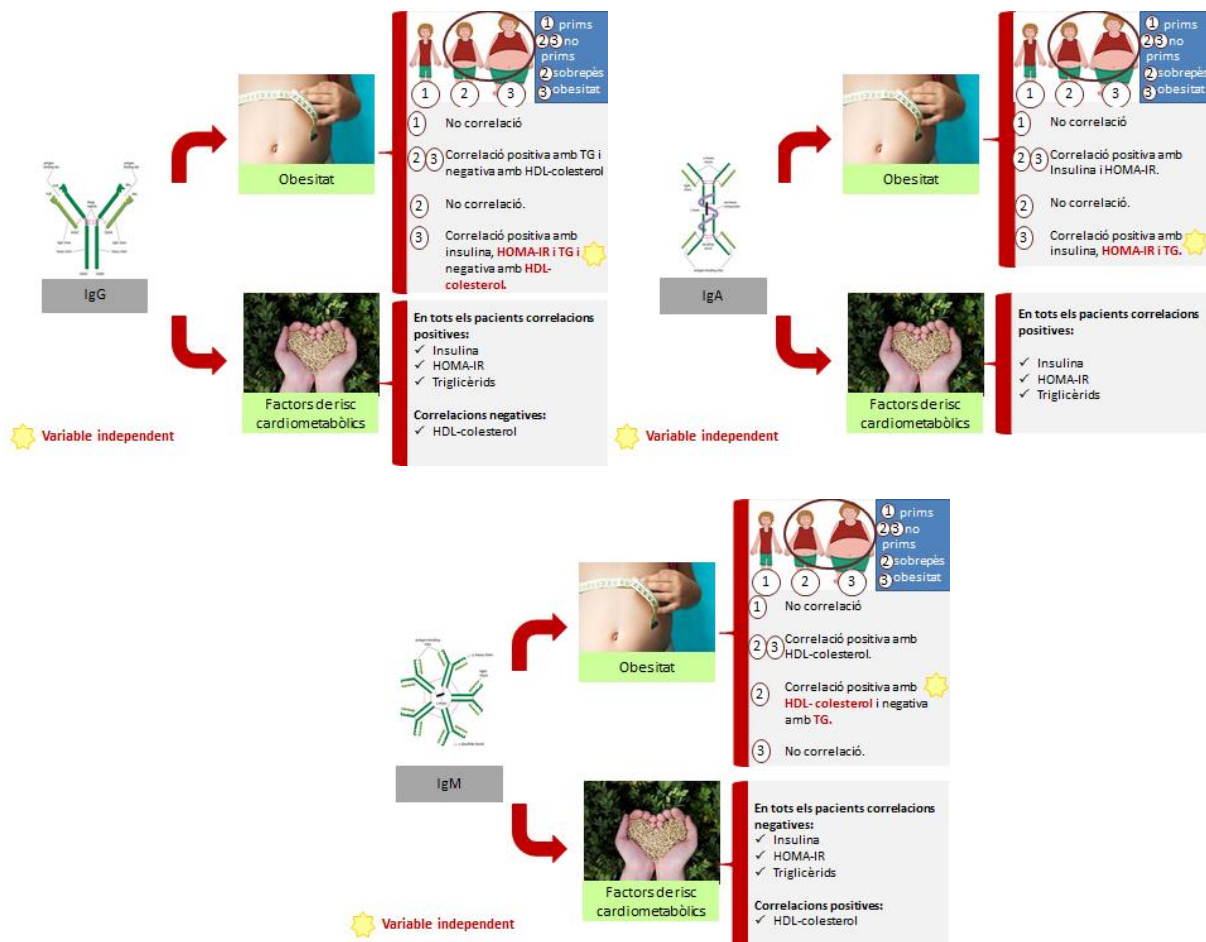


Figura 32. Associació entre els nivells circulants d'immunoglobulines amb l'obesitat i els factors de risc cardiometabòlics en nens prepuberals.

TG: triglicèrids; HOMA-IR: model de mesura de la resistència a la insulina. Figura realitzada per l'autora.

B) Immunoglobulines i altres factors de risc cardiovascular:

En pacients obesos amb diabetis tipus 2 també s'ha demostrat l'augment de la infiltració i/o activació de limfòcits B. En un estudi realitzat en mostres de greix subcutani i de l'epiplon de 32 homes i dones obesos amb diabetis tipus 2, es van detectar increments de limfòcits B i es va constatar la seva implicació en la resistència a la insulina relacionada amb la obesitat¹⁷². És conegut que els limfòcits B poden contribuir a l'expansió del teixit adipós en pacients obesos, mitjançant la secreció de citocines i la modulació de macròfags responsables de l'increment de la resposta inflamatòria local i de la regulació de la sensibilitat a la insulina²¹¹.

Ja hem comentat, que en adults, els nivells plasmàtics d'IgA s'han associat a l'obesitat i a la síndrome metabòlica (sobretot a l'obesitat abdominal i a la hipetrigliceridèmia)^{180,219}.

La IgA també s'ha vist més elevada en el sexe masculí (un 20% més que en el femení). En canvi, la IgM s'ha trobat més elevada en dones (un 30%) fet que s'ha atribuït als efectes hormonals sobre els fmfòcits B^{180,220}.

Estudis en cohorts de pacients diabètics (tipus 1 i tipus 2) han constatat també un increment dels nivells plasmàtics d'IgA i suggereixen la implicació d'aquestes immunoglobulines en la patogènesi de les complicacions vasculars de la diabetis mellitus¹⁸¹. Així mateix, altres cohorts realitzades només amb pacients diabètics tipus 2 han evidenciat un increment en sèrum de l'activació dels limfòcits B¹⁷⁶.

Seguint aquesta mateixa línia, estudis de risc cardiovascular en adults, han evidenciat que nivells elevats d'IgA i nivells baixos d'IgG en sèrum eren factors de risc del desenvolupament de la diabetis tipus 2¹⁷⁸.

S'han descrit estudis que emfatitzen la participació de les cèl·lules B en la patogènesi de la resistència a la insulina associada a la obesitat. En algun d'ells es demostra que, en ratolins amb obesitat induïda per la dieta i en els que es provoca una deficiència de cèl·lules B (a través d'anticossos), la transferència posterior en sèrum d'IgG però no d'IgM ja és suficient per provocar la resistència a la insulina¹⁷⁹.

En el nostre estudi, trobem que, en els nens prepuberals obesos, un increment dels nivells en sèrum d'IgG i d'IgA es correlacionen amb un fenotip metabòlic menys favorable (increment de la resistència a la insulina i dels lípids sèrics). Per tant, aquesta associació significativa entre les variacions normals d'IgG i IgA i els nivells de resistència a la insulina en nens prepuberals obesos concorden amb les observacions de la literatura, comentades fins ara.

Fent referència a la resistència a la insulina, les concentracions d'immunoglobulines IgG i IgA les hem trobat correlacionades amb els nivells d'insulina en dejú i amb l'increment de l'HOMA-IR. En el cas dels lípids sèrics, la correlació ha estat tan amb els TG com amb l'HDL-colesterol (Figura 32).

Tot i això, ja hem comentat que aquests resultats han estat significatius en el grup dels pacients obesos però no en el grup dels pacients primos o amb sobrepès, fet que ens suggereix que per provocar una resposta en el sistema immunitari adaptatiu del teixit adipós és necessari un cert grau d'obesitat.

De totes maneres, reconeixem que la naturalesa transversal del nostre estudi no ens permet deduir una relació causal entre els nivells d'immunoglobulines sèriques i el metabolisme dels nens. De fet, pot existir una relació bidireccional entre la resposta immunitària adquirida i el metabolisme energètic.

Per altra banda, cal tenir en compte, que hi ha diferents estudis en població adulta, on es correlaciona l'exposició a infeccions amb malalties cardiovasculars (el risc d'infart de miocardi, accident cerebrovascular o mort cardiovascular). Ja sabem, que les infeccions estan directament correlacionades amb la producció

d'immunoglobulines, motiu pel qual podem extrapolar l'increment d'infeccions amb l'increment de producció d'immunoglobulines.

En un estudi canadenc de 3168 pacients es van avaluar els nivells de diferents anticossos (*Clamidia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, citomegalovirus (CMV) i virus de l'hepatitis A) amb risc de malalties cardiovasculars i es va trobar que l'exposició a CMV s'associava a un increment de risc de malalties cardiovasculars¹⁸².

En d'altres treballs, es relacionen els nivells plasmàtics d'immunoglobulines amb un increment de risc de mort en general i sobretot per malalties infeccioses i així mateix atribueixen als nivells elevats d'IgG un possible marcador per indicar malaltia subclínica¹⁸³.

En nens (5-14 anys d'edat), existeixen estudis que associen les infeccions agudes amb l'aparició de canvis lipídics (modificació oxidativa de les LDL i milloria de la disminució de les HDL) i amb l'engruiximent de la capa íntima-mèdia carotídia. I per tant, amb un major risc d'aterosclerosi¹⁸⁴.

En el nostre estudi no hem trobat correlació entre els nivells d'immunoglobulines i el GIMc.

Creiem que caldria dissenyar nous estudis en nens on s'incloués aquest paràmetre per conèixer millor el paper de les immunoglobulines amb els factors de risc cardiometabòlic.

En resum, tots aquests resultats ens informen del paper que tenen les immunoglobulines, molècules de la immunitat adquirida, en el desenvolupament de les malalties cardiovasculars.

6.3 DISCUSSIÓ CONJUNTA DELS RESULTATS

En resum, sabem que per prevenir l'aparició de malaltia cardiovascular en l'edat adulta, les mesures d'intervenció sobre l'obesitat (especialment l'obesitat abdominal) i sobre els factors de risc de malaltia metabòlica cardiovascular durant les etapes prèvies a la pubertat poden esdevenir punts clau.

Així mateix, durant els últims anys, diversos estudis han demostrat una associació del sistema immunològic (tant la immunitat innata com l'adquirida) amb factors de risc i de desenvolupament de malaltia cardiovascular. Inicialment els estudis orientaven més cap a una relació seqüencial en la qual el procés d'inflamació crònica produïa una estimulació del sistema immunitari, si bé els últims treballs condueixen a la hipòtesi d'una interacció més bilateral entre el sistema immunitari i els factors de risc cardimetabòlics.

Sobre aquestes bases, hem estudiat paràmetres d'immunitat innata (α -defensines i BPI) i paràmetres d'immunitat adquirida (immunoglobulines IgA, IgG i IgM) amb paràmetres de risc cardiometabòlic en nens prepuberals per analitzar si aquestes molècules podien esdevenir nous determinants per avaluar el desenvolupament de l'obesitat abdominal en la infància i estudiar-ne la seva associació amb altres paràmetres de risc cardiovascular.

En la immunitat innata, hem trobat una correlació entre els nivells en sèrum de les α -defensines i un perfil metabòlic més desfavorable. Així mateix també hem mostrat que les α -defensines podrien ser nous marcadors de l'obesitat infantil ja que els nivells de les α -defensines als 7 anys d'edat són predictors independents de l'IMC i de la disposició de greix abdominal en nens prepúber (als 10 anys d'edat).

Contràriament, la BPI presenta un paper protector, ja que els nivells de BPI s'han correlacionat amb un perfil metabòlic més favorable i els seus nivells en sèrum s'associen de manera independent amb el perímetre abdominal als 7 anys d'edat. Malauradament, en l'estudi longitudinal aquestes troballes no han sigut significatives, per tant, tot i que postulem que les molècules BPI poden esdevenir marcadors protectors de l'obesitat infantil, no podem establir-ne clarament la causalitat i creiem que cal dissenyar més estudis per acabar de concretar el paper que desenvolupen en l'aparició de l'obesitat i amb la seva associació a factors de risc cardiovasculars.

Les associacions entre α -defensines i BPI amb paràmetres de risc cardiovascular i metabòlic ja s'han descrit anteriorment en els adults. Aquests estudis van proposar que les α -defensines podien estar correlacionades amb el procés d'inflamació i l'aterosclerosi¹³⁶⁻¹⁴⁴ mentre que la BPI estava associada bàsicament amb la intolerància a la glucosa i la diabetis tipus 2^{160,161}. No obstant això, els nostres són els primers estudis a

demostrar associacions d'aquestes molècules del sistema immunitari amb paràmetres de risc cardiometabòlic en pediatria.

Fent referència a la immunitat adquirida, hem estudiat els nivells d'immunoglobulines, l'obesitat i els factors de risc cardiovascular i hem trobat una associació entre l'augment de les IgG i de les IgA en sèrum dels nens amb sobrepès i un fenotip metabòlic menys favorable (sobretot en els nens obesos).

Es coneix la participació activa dels macròfags i més recentment de les cèl·lules T en la inflamació crònica del teixit adipós^{209,210,221} però es desconeix quin és el paper de les cèl·lules B en el desenvolupament de la resistència a la insulina²¹¹. En ratolins obesos, s'ha demostrat l'increment de l'activació dels limfòcits B en el teixit adipós¹⁷¹, així com també en pacients obesos¹⁷² i diabètics tipus 2¹⁷⁶. En ratolins amb obesitat induïda per la dieta, també s'ha descobert que els limfòcits B podien promoure la resistència a la insulina a través de la producció d'anticossos IgG¹⁷⁹.

Totes aquestes trobades, avalen la hipòtesi que el paper del sistema immunitari sobre la resistència a la insulina ja seria evident durant la infància i donen validesa als resultats del nostre estudi.

Tot i això, com ja hem comentat, es tracta d'un estudi transversal i creiem que caldria dissenyar estudis longitudinals per poder establir la causalitat entre els nivells d'immunoglobulines i l'obesitat i/o els factors de risc cardiovascular.

En resum, els nostres resultats suggereixen un paper addicional de la immunitat innata i adquirida en la regulació de la resistència a la insulina i l'obesitat en edat pediàtrica. La detecció precoç de concentracions disminuïdes de BPI i augmentades de les α -defensines i d'immunoglobulines (Ig G i IgA) pot contribuir a predir l'increment de pes, especialment de tipus abdominal, i l'aparició de resistència a la insulina en nens prepuberals. Aquestes troballes poden contribuir a la prevenció del desenvolupament d'obesitat infantil.

CONCLUSIONS

7. **CONCLUSIONS**

1. Els nens amb sobrepès i obesitat presenten valors més alts de les α -defensines i valors més baixos de BPI que els nens primers.
2. Les α -defensines circulants s'associen a un perfil metabòlic menys favorable i són predictores del perímetre abdominal als 7 anys d'edat i de l'IMC i del perímetre abdominal als 10 anys d'edat.
3. Els nivells circulants de BPI s'associen a un perfil metabòlic més favorable i són predictors del perímetre abdominal als 7 anys d'edat.
4. Els nens amb sobrepès i obesitat mostren nivells sèrics més elevats d'immunoglobulines IgG i IgA que els nens primers. Els nivells en sèrum d'immunoglobulina M (IgM) són ser similars en tots els grups d'estudi.
5. Els nivells de IgG i IgA en nens obesos s'associen amb un perfil metabòlic menys favorable i són predictors de l'HOMA-IR, TG i HDL als 7 anys d'edat.
6. Els nivells d'IgM en la població general s'associen amb un perfil lipídic més favorable (menor insulina, HOMA-IR i TG i major HDL-colesterol) als 7 anys d'edat.

BIBLIOGRAFIA

7 BIBLIOGRAFIA

1. Franks PW, Hanson RL, Knowler WC, et al. Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death. *N Engl J Med* 2010; 362:485-493.
2. Olefsky JM, and Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol* 2010;72:219-246.
3. Weisberg SP, McCann D, Desai M, et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2003; 112:1796-1808.
4. Brindley DN. Role of glucocorticoids and fatty acids in the impairment of lipid metabolism observed in the metabolic syndrome. *Int J Obes* 1995; 19 (Sup):S69-S75.
5. Bras i Marquillas J. Obesidad en la infancia y adolescencia. *Revista Pediatría de Atención Primaria* 2005; 7:209-230.
6. Bueno Sánchez M. Endocrinología pediátrica en el siglo XXI. El modelo de la obesidad: pasado, presente y futuro. *An Pediatr* 2004; 60:26-29.
7. Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Ribas Barba L, Serra Majem L. Epidemiología y factores determinantes de la obesidad infantil y juvenil en España. *Rev Pediatr Aten Primaria* 2005; 7:13-20.
8. Serra Majem L, Ribas Barba L, Aranceta Bartrina J, et al. Childhood and adolescent obesity in Spain. Results of the enkid study (1998-2000). *Med Clin (Barc)* 2003; 121:725-732.
9. Quetelec A. Le poids de l'homme aux différents ages. *Mémoires De L'Académie Des Sciences De Belgique* 1832.
10. Rodríguez G, Fleta J, Moreno LA. Definición y diagnóstico de la obesidad. Lama More RA, editor. *La obesidad en los niños. Un problema de todos*. Madrid: Tile Von SL;2009.p9-26.
11. Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Bernson GS. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: the Bogalusa Herat Study *Pediatrics* 1999;103:1175-82.
12. Carrascosa-Lezcano A, Fernández-García JM, Fernández Ramos C, et al. Estudio transversal español de crecimiento 2008. Parte II: valores de talla, peso e índice de masa corporal desde el nacimiento a la talla adulta. *An Pediatr (Barc)* 2008;68:552-69.
13. Kuk JL, Katzmarzyk PT, Nichaman MZ, et al. Visceral fat is an independent predictor of all-cause mortality in men. *Obesity (Silver Spring)* 2006; 14:336-41.
14. Brambilla P, Bedogni G, Moreno LA, et al. Crossvalidation of anthropometry against magnetic resonance imaging for the assessment of visceral and subcutaneous adipose tissue in children. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:23-30.

15. Maffeis C, Banzato C, Talamini G. Waist-to-Height Ratio, a Useful Index to Identify High Metabolic Risk in Overweight Children. *J. Pediatr* 2008;152:207-213.e2.
16. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120:1640-5.
17. Moreno LA, Fleta J, Mur L, et al. Waist circumference values in Spanish children-gender related differences. *Eur J Clin Nutr* 1999;53:429-33.
18. Moreno LA, Rodriguez G. Dietary risk factors for development of childhood obesity. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2007;10:336.
19. Kennedy A, Martinez K, Chuang CC, et al. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. *J Nutr* 2009;139:1-4.
20. Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci* 2009;54:1847-1856.
21. Nedvidkova J, Smitka K, Kopsky V, Hainer V. Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res* 2005; 54:133-140.
22. Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, et al. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes* 2006;55:249-259.
23. Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I: Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:29-33.
24. Araki S, Dobashi K, Kubo K, et al. High molecular weight, rather than total, adiponectin levels better reflect metabolic abnormalities associated with childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:5113-5116.
25. Combs TP, Berg AH, Rajala MW, et al. Sexual differentiation, pregnancy, calories restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes* 2003;52:268-276.
26. Nedvidkova J, Smitka K, Kopsky V, Hainer V. Adiponectin, an adipocyte-derived protein. *Physiol Res* 2005;54:133-140.
27. Ukkola O, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? *J Mol Med* 2002;80:696-702.
28. Vionnet N, Hani EH, Dupont S, et al. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet* 2000;67:1470-1480.

29. Giannessi D, Maltini M, Del Ry S. Adiponectin circulating levels: a new emerging biomarker of cardiovascular risk. *Pharmacol Res* 2007;56:459-467.
30. Plaza I, Mariscal RP, Ros-Jellici J, et al. Estudio de Fuenlabrada: lípidos y lipoproteínas en niños y adolescentes. *Rev Esp Cardiol* 1989; 42:444-458.
31. O.Cortés Rico y Grupo Rev Infand /PAPPS Infancia y Adolescencia. Cribado de hipercolesterolemia en la infancia. *Rev Pediatr Aten Primaria* 2007; 9:245-79.
32. Porteno MP, León M , Andrés EM, et al. Comparación de los factores de riesgo cardiovascular de jóvenes españoles de los años ochenta y tras el 2000. Datos del estudio AGEMZA. *Rev Esp Cardiol* 2008;61(12):1260-6.
33. Daniels SR, Greer FR. Lipid Screening and Cardiovascular Health in Childhood. *Pediatrics* Jul 2008; 122(1):198-208. DOI: 10.1542/peds.2008-1349.
34. Lauer RM, Clarke WR. Use of Cholesterol Measurements in Childhood for the Prediction of Adult Hypercholesterolemia. The Muscatine Study. *JAMA* 1990; 264(23):3034-3038. DOI: 10.1001/jama.1990.03450230070031
35. Miller M, Stone NJ, Ballantyne VB, et al. Triglycerides and Cardiovascular Disease. *Circulation* 2011;123:2292-2333.
36. Webber LS, Srinivasan SR, Wattigney WA, Berenson GS. Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood. The Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol* 1991;133:884-889.
37. Porkka KVK, Viikari JSA, Akerblom HK. Short-term intra-individual variation and long-term tracking of serum lipid levels in children: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis* 1994;105:63-69.
38. Berenson GS, Wattigney WA, Tracy RE, et al. Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study) *Am J Cardiol* 1992;70:851-858.
39. Jover E. Factores de riesgo cardiovascular en la infancia y adolescencia. En: Oya M, Garcés C (editores). Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. Enfermedades cardiovasculares. Nutrición, genética y epidemiología. Madrid: Ediciones Doyma, S.L.; 2000.p.5-28.
40. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics* Aug 2004;114(2):555-576.
41. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med* 2004; 350:2362-2374.
42. Lee JM, Okumura MJ, Davis MM, et al. Prevalence and determinants of insulin resistance among U.S. adolescents: a population-based study. *Diabetes Care* 2006;29:2427-32.

43. Valverde AM, Benito M, Lorenzo M. The brown adipose cell: a model for understanding the molecular mechanisms of insulin resistance. *Acta Physiol Scand* 2005;183:59-73.
44. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
45. Pérez Maraver M, Montanya Mias E. Técnicas para el estudio de la resistencia insulínica. Una valoración crítica. *Av Diabetol* 2001;17:179-86.
46. Garcia Cuartero B, Garcia Lacalle C, Jimenez Lobo C, et al. Índice HOMA y QUICKI, insulina y péptido C en niños sanos. Puntos de corte de riesgo cardiovascular. *An Pediatr (Barc)* 2007;66:481-90.
47. Tresaco B, Bueno G, Pineda I, et al. Homeostatic model assessment (HOMA) index cut-off values to identify the metabolic syndrome in children. *J. Physiol Biochem* 2005;61:381-8.
48. Ascaso JF, Romero P, Real JT, et al. Cuantificación de insulinoresistencia con los valores de insulina basal e índice HOMA en una población no diabética. *Med Clin (Barc)* 2001;117:530-3.
49. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. and On behalf of the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2017;CIR 000000000000485, originally published January 25, 2017. <https://doi.org/10.1161/CIR.000000000000485>.
50. Dhingra R, Philimon G, Byung Ho N, et al. C - reactive protein, inflammatory conditions and cardiovascular disease risk. *Am J Med*. 2007; 120(12):1054–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2215387/> .
51. Nordet P, Mendis M, Dueñas A, et al. Total cardiovascular risk assessment and management using two prediction tools, with and without blood cholesterol. *MEDICC Review*. 2013;15(4). Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1555-79602013000400009&script=sci_arttext.
52. Prugger C, Luc G, Haas B, et al. Multiple Biomarkers for the Prediction of Ischemic Stroke: The PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(3):659-66. Disponible en: <http://atvb.ahajournals.org/content/33/3/659.full.pdf+html>.
53. Acevedo M, Arnáiz P, Barja S , et al. Proteína C reactiva y su relación con adiposidad, factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica en niños sanos. *Revista Española de Cardiología*, 2007;1051-1058.
54. Melander O, Newton Cheh C, Almgren P, et al. Novel and conventional biomarkers for the prediction of incident cardiovascular events in the community. *JAMA*. 2009; 302(1): 49–57. Disponible en: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?articleid=184180>.
55. Fàbregas M, Berges I, Fina F, et al. Effectiveness of an intervention designed to optimize statins use: a primary prevention randomized clinical trial. *BMC Family Practice*. 2014;15:135. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2296-15-135.pdf>.

56. Tornel Osorio PL, Martínez Hernández P, Abellán Alemán J, Alfonso Canoa C. La proteína C reactiva como marcador de riesgo cardiovascular. *Hipertensión y Riesgo Vascul* 2003;74-81.
57. Sánchez P, Rodríguez M, Villacorta E, et al. Cinética de la proteína C reactiva en las distintas manifestaciones clínicas del síndrome coronariagudo. *Revista Española de Cardiología*, 2006;441-447.
58. Ford DS. C reactive protein concentration and cardiovascular disease risk factors in children. *Circulation* 2003; 108: 1053-8.
59. Skilton MR, Celermajer DS. Endothelial dysfunction and arterial abnormalities in childhood obesity. *Int J Obes* 2006; 30: 1041-9.
60. Reinehr T, Kiess W, de Sousa G, et al. Intima media thickness in childhood obesity: relations to inflammatory marker, glucose metabolism, and blood pressure. *Metabolism* 2006; 55:113-8.
61. Arnaíz GP, Acevedo BM, Barja y Salesa et al. Arterioesclerosis subclínica, factores de riesgo cardiovascular clásicos y emergentes en niños obesos chilenos. *Rev. chil. pediatr.* [Internet]. 2007 Abr ; 78(2):135-142.
62. Quyyumi AA. Endothelial functions on health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med* 1998; 105:325-95.
63. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004- 2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis.* 2007;23(1):75-80.
64. Persson J, Formgren J, Israelsson B, Berglund G. Ultrasound-determined intima-media thickness and atherosclerosis. Direct and indirect validation. *Arterioscl Thromb.* Feb 1994;14(2):261-264.
65. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM. Non invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111-5.
66. Raitakari OT, Celermajer DS. Testing for endothelial dysfunction. *Ann Med.* 2000; 32:293-3004.
67. Verma S, Buchanan MR, Anderson T. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation* 2003; 108:2054-9.
68. Wiegman A, De groot E, Hutten B, et al. Arterial intima-media thickness in children heterozygous for familial hypercholesterolemia. *Lancet* 2004;363:369-70.
69. Jarvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation* 2004;109:1750-5.
70. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Col Cardiol* 1993;22:854-8

71. Gaeta G, De Michele M, Cuomo S, et al. Arterial abnormalities in the off spring of patines with premature myocardial infarction. *N Engl J Med* 2000;343:840-6.
72. Woo KS, Chook P, Yu CW, et al. Overweight in children is associated with arterial endothelial dysfunction and intima-media thickening. *Int J Obes* 2004;28:852-7.
73. Reinehr T, Kiess W, de Sousa G, et al. Intima media thickness in childhoodobesity: relations to inflammatory marker, glucose metabolism, and blood pressure. *Metabolism* 2006;55:113-8.
74. Meyer AA, Kundt G, Steiner M, et al. Impaired flow-mediated vasodilation, carotid artery intima-media thickening, and elevated endothelial plasma markers in obese children: the impact of cardiovascular risk factors. *Pediatrics* 2006;117:1560-7.
75. Iannuzzi A, Licenziati MR, Acampora C, et al. Increased carotid intima-media thickness and stiffness in obese children. *Diabetes Care*. 2004;27:2506-8.
76. Reaven GM. The metabolic syndrome: requiescat in pace. *Clin Chem* 2005;51:931-8.
77. Reaven GM. The metabolic sundrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr* 2006;83:1237-47.
78. Singh B, Mallika V, Goswami B. Metabolic syndrome: diagnosis, potential markers and management – an update. *Clin Chim Acta*. 2007;380:4–12.
79. Koivistoinen T, Hutri-Kähönen N, Juanola M, et al. Metabolic syndrome in childood and increased arterial stiffness in adulthood: the Cardiovascular Risk In Young Finns Study. *Ann Med* 2011;43:312-9.
80. Morrison JA, Friedman LA, Wang P, Glueck CJ. Metabolic Syndrome in Childhood Predicts Adult Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellius 25 to 30 Years Later. *J Pediatr* 2008;152:201-6.
81. Magnussen CG, Koshinen J, Juanola M, et al. A diagnosis of the metabolic syndrome in youth that resolves by adult life is associated with a normalization of high carotid intima-media thickness and type 2 diabetes mellitus risk: the Bogalusa heart and cardiovascular risk in young Finns studies. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:1631-9.
82. Schubert CM, Sun SS, Burns TL, et al. Predictive ability of childhood metabolic components for adult metabolic syndrome and type 2 diabetes. *J Pediatr* 2009;155:S6.e1-7.
83. Magnussen CG, Koskinen J, Chen W, et al. Pediatric metabolic syndrome predicts adulthood metabolic syndrome, subclinical atherosclerosis, and type 2 diabetes mellitus but is not better than body mass index alone: the Bogalusa Heart Study and the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation* 2010;122:1604-11.
84. Morrisson JA, Ford ES, Steinberger J. The pediatric metaboloc syndrome. *Minerva Med* 2008;99:26987.
85. Scott MG. Does the Metabolic Syndrome Exist? *Diabetes Care* 2006;29:1689-92.
86. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome-a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366:1059-62.

87. Griera Borrás JL, Contreras Gilbert J. Síndrome metabólico, ¿fin de la controversia? Rev Esp Obs 2010;8:69-74.
88. Lizarzaburu Robles JC. Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. An Fac med.2013;17(4):315-20.
89. Ganeshan K, Chawla A. Metabolic Regulation of Immunitari Responses. Annual Review of Immunology 2014;32:1, 609-634.
90. Warrington R, Watson W, Kim HL, Romana Antonetti F. An introduction to immunology and immunopathology. Allergy, Asthma & Clinical Immunology 2011,7(suppl 1):S1. <http://www.aacijournal.com/content/7/S1/S1>.
91. Turvey SE, Broide DH. Innate immunity. J Allergy Clin Immunol 2010, 125(Suppl 2):S24-32.
92. Bonilla FA, Oettgen HC. Adaptative immunity. J Allergy Clin Immunol 2010,125(Suppl 2):S33-40.
93. Murphy KM, Travers P, Walport M. Janeway's Immunobiology. New York and London:Garland Science;Seventh 2007.
94. Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. J Allergy Clin Immunol 2010, 125(Suppl 2):S73-80.
95. Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, et al: Phylogenetic perspectives in innate immunity. Science 1999; 284(5418):1313-8.
96. Yang D, Biraqyn A., Hoover DM, et al. Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. Ann. Rev Immunol 2004;22,181.
97. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. Nat. Rev. Immunol. 2003;3(9),710.
98. Klotman ME, Chang TL. Defensins in innate antiviral immunity. Nat Rev Immunol. 2006; 6(6), 447.
99. Chang TL, Klotman ME. Defensins: natural anti-VIH peptides. AIDS REv 2004; 6(3),161.
100. Chang TL, Vargas J.Jr, DelPortilo A, et al. Dual role of alpha-defensin-1 in anti-HIV-1 innate immunity. J Clin. Invest. 2005; 115(3),765.
101. Kim C, Slavinskaya Z, Merrill AR, et al. Human alpha-defensins neutralize toxins of the mono-ADP-ribosyltransferase family. Biochem. J. 2006;399(2),225.
102. Wang W, Mulakala C, Ward SC, et al. Retrocyclins Kill bacilli and germinating spores of Bacillus anthracis and inactivate anthrax lethal toxin. J. Biol. Chem.2006; 281(43),32755.
103. Bulet P, Hetru C, Dimarcq JL, et al. Antimicrobial peptides in insects; structure and function. Dev. Comp Immunol. 1999;23(4-5),329.
104. Hill CP, Yee J, Selsted ME, et al. Crystal structure of defensin HNP-3, an amphiphilic dimer: mechanisms of membrane permeabilization. Science 1991; 251(5000),1481-5.

105. Hoover DM, Chertov O and Lubkowski J. The structure of human beta-defensin-1: new insights into structural properties of beta-defensins. *J. Biol. Chem.* 2001;276(42),39021-6.
106. Hoover DM, Rajashankar KR, Blumenthal R, et al. The structure of human beta-defensin-2 shows evidence of higher order oligomerization. *J. Biol. Chem.* 2000; 275(42),32911-8.
107. Pardi A, Zhang XL, Selsted ME, et al. NMR studies of defensin antimicrobial peptides. 2. Three-dimensional structures of rabbit NP-2 and human HNP-1. *Biochemistry* 1992; 31 (46),11357-64
108. Zhang XL, Selsted ME, and Pardi A. NMR studies of defensin antimicrobial peptides. 1. Resonance assignment and secondary structure determination of rabbit NP-2 and human HNP-1. *Biochemistry* 1992;31(46),11348-56.
109. Zimmermann GR, Legault P, Selsted ME, et al. Solution Structure of bovine neutrophil beta-defensin-12: the peptide fold of the beta-defensins is identical to that of the classical defensins. *Biochemistry* 1995; 34(41),13663-71.
110. Selsted ME, Harwig SS. Determination of the disulfide array in the human defensin HNP-2. A covalently cyclized peptide. *J. Biol Chem.* 1989; 264(7),4003-7.
111. Tang YQ, Selsted ME. Characterization of the disulfide motif in BNBD-12, an antimicrobial beta-defensin peptide from bovine neutrophils. *J. Biol. Chem.* 1993;268(9),6649-53.
112. Sparkes RS, Kronenberg M, Heinzmann C, et al. Assignment of defensin gene(s) to human chromosoma 8p23. *Genomics* 1989;5(2),240-2.
113. Ganz T, Lehrer RI. Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr Opin. Immunol.*1998;10(1),41-4.
114. Ganz T, Selsted ME, Szklarek D, et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J Clin. Invest* 1985;76(4),1427-35.
115. Porter ME, Liu L, Oren A, et al. Localization of human intestinal defensin 5 in Paneth cell granules. *Infect. Immun.* 1997;65(6),2389-95.
116. Ghosh D, Porter E, Shen B, et al. Paneth cell trypsin is the processing enzyme for human defensin-5. *Nat. Immunol.*2002;3(6),583-90.
117. Porter E, Yang H, Yavagal S, et al. Distinct defensin profiles in *Neisseria gonorrhoeae* and chlamydia trachomatis urethritis reveal novel epithelial cell-neutrophil interactions. *Infect. Immun.*2005; 73(8),4823-33.
118. Lehrer RI. Multispecific myeloid defensins. *Curr. Opin. Hematol.* 2007; 14(1),16-21.
119. Lehrer RI, Barton A, Daher KA, et al. Interaction of human defensins with *Escherichia coli*. Mechanism of bactericidal activity. *J. Clin. Invest* 1989; 84(2),553-61.
120. Lehrer RI, Ganz T, Selsted ME. Oxygen-independent bactericidal systems. Mechanisms and disorders. *Hematol.Oncol. Clin. North Am.* 1988; 2(1),159-69.

121. Grigat J, Soruri A, Forssmann U, et al. Chemoattraction of macrophages, T lymphocytes, and mast cells is evolutionarily conserved within the human alpha-defensin family. *J Immunol* 2007; 179(6):3958-65.
122. Territo MC, Ganz T, Selsted ME, et al. Monocyte-chemotactic activity of defensins from human neutrophils. *J Clin. Invest* 1989; 84(6):2017-20.
123. Yang D, Chen Q, Chertov O, et al. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naïve T and immature dendritic cell. *J Leukoc. Biol.* 2000; 68(1):9-14 .
124. Chertov O, Michiel DF, Xu L, et al. Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils. *J Biol. Chem.* 1996;271(6):2935-40.
125. Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, et al. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 1999; 286(5439):525-8.
126. Chaly YV, Paleolog EM, Kolesnikova TS, et al. Neutrophil alpha-defensin human neutrophil peptide modulates cytokine production in human monocytes and adhesion molecule expression in endothelial cells. *Eur. Cytokine Netw.* 2000; 11(2):257-66.
127. Nishimura S, Manabe I, Nagai R. Adipose tissue inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Discov Med* 2009;8:55-60.
128. Kanneganti T-D, Dixit VD. Immunological complications of obesity. *Ant Immunol* 2012; 13:707-12.
129. Lee B, Qiao L, Kinney B, Feng G-S, Shao J. Macrophage depletion disrupts immune balance and energy homeostasis. *PLoS One* 2014;9:e99575.
130. Ghazarian M, Luck H, S. Revelo X, Winer S, A. Winer D. Immunopathology of Adipose Tissue during Metabolic Syndrome. *Turk Patoloji Derg* 2015; 31(suppl):172-180.
131. Manco M, Fernandez-Real JM, Equitani F, et al. Effect of Massive Weight Loss on Inflammatory Adipocytokines and the Innate Immune System in Morbidly Obese Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92 (2): 483-490. doi:10.1210/jc.2006-0960.
132. Jiang XC. The effect of phospholipid transfer protein on lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Front Biosci.* 2002;7:d1634–d1641.
133. Maneerat Y, Prasongsukarn K, Benjathummarak S, et al. Increased alpha-defensin expression is associated with risk of coronary heart disease: a feasible predictive inflammatory biomarker of coronary heart disease in hyperlipidemia patients. *Lipids in Health and Disease.* 2016;15:117. doi:10.1186/s12944-016-0285-5.
134. Németh BC, Várkonyi T, Somogyvári F, et al. Relevance of α -defensins (HNP1-3) and defensin β -1 in diabetes. *World Journal of Gastroenterology : WJG.* 2014;20(27):9128-9137. doi:10.3748/wjg.v20.i27.9128.

135. Joseph G, Tarnow L, Astrup AS, et al. Plasma α -Defensin Is Associated with Cardiovascular Morbidity and Mortality in Type 1 Diabetic Patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93 (4): 1470-1475. doi: 10.1210/jc.2007-1910.
136. López-Bermejo A, Chico-Julià B, Castro A, et al. Alpha defensins 1,2 and 3: potential roles in dyslipidemia and vascular dysfunction in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 May;27(5):1166-71.
137. Urbonaviciene G, Frystyk J, Flyvbjerg A, et al. Markers of inflammation in relation to long-term cardiovascular mortality in patients with lower-extremity peripheral arterial disease. *Int. J. Cardiol.* 2012; 160, 89–94.
138. Nassar H, Lavi E, Akkawi S, et al. Alpha-Defensin: link between inflammation and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2007;194:452–457. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2006.08.046. [[PubMed](#)] [[Cross Ref](#)].
139. Vuong J, Qiu Y, La M, et al. Reference intervals of complete blood count constituents are highly correlated to waist circumference: should obese patients have their own 'normal values?'. *Am J Hematol* 2014;89:671-7.
140. Talukdar S, Oh da Y, Bandyopadhyay G, et al. Neutrophils mediate insulin resistance in mice fed a high-fat diet through secreted elastase. *Nat Med.* 2012; 18:1407-12.
141. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res.* 2008;49:1894-903.
142. Higazi AA, Nassar T, Ganz T, et al. The alpha-defensins stimulate proteoglycan-dependent catabolism of low-density lipoprotein by vascular cells: a new class of inflammatory apolipoprotein and a possible contributor to atherogenesis. *Blood* 2000;96:1393-8.
143. Paulin N, Döring Y, Kooijman S, et al. Human Neutrophil Peptide 1 limits hypercholesterolemia-induced atherosclerosis by increasing hepatic LDL clearance. *EBio Medicine* 2017 Feb;16:204-211.
144. Abu-Fanne R, Maraga E, Abd-Elrahman I, et al. α -Defensins Induce a Post-translational Modification of Low Density Lipoprotein (LDL) That Promotes Atherosclerosis at Normal Levels of Plasma Cholesterol. *The Journal of Biological Chemistry.* 2016;291(6):2777-2786. doi:10.1074/jbc.M115.669812.
145. Weiss J, Elsbach P, Olsson I, et al. Purification and characterization of a potent bactericidal and membrane active protein from the granules of human polymorphonuclear leukocytes. In *J Biol Chem* 1978; 253: 2664-72.
146. Beamer LJ, Carroll SF, Eisenberg D. Crystal structure of human BPI and two bound phospholipids at 2.4 angstrom resolution. In *Science* 1997; 276:1861-4.
147. Hubacek JA, Buchler C, Aslanidis C, Schmitz G. The genomic organization of the genes for human lipopolysaccharide binding protein (LBP) and bactericidal permeability increasing protein (BPI) is highly conserved. In *Biochem Biophys Res Commun* 1997;236:427-30.

148. Egesten A, Breton-Gorius J, Guichard J, et al. The heterogeneity of azurophil granules in neutrophil promyelocytes: immunogold localization of myeloperoxidase, cathepsin G, elastase, proteinase 3, and bactericidal/permeability increasing protein. In *Blood* 1994; 83: 2984-94.
149. Gray PW, Flaggs G, Leong SR, et al. Cloning of the cDNA of a human neutrophil bactericidal protein. Structural and functional correlations. In *J Biol Chem* 1989; 264:9505-9.
150. Dentenr MA, Francot GJ, Buurman WA. Bactericidal/Permeability-increasing protein, a lipopolysaccharide specific protein on the surface of human peripheral blood monocytes. *J Infect Dis* 1996;173:252-5.
151. Canny G, Levy OI, Furuta GT, et al. Lipid mediator-induced expression of bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in human mucosal epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:3902-7.
152. Reichel PH, Seemann C, Csernok E, et al. Bactericidal/Permeability-increasing protein is expressed by human dermal fibroblasts and upregulated by interleukin 4. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:473-5.
153. Calafat J, Janssen H, Tool A, et al. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is present in specific granules of human eosinophils. *Blood* 1998;91:4770-5.
154. Mannion BA, Weiss J, Elsbach P. Separation of sublethal effects of polymorphonuclear leukocytes on *Escherichia coli*. *J Clin Invest* 1990; 86:631-41.
155. Mannion BA, Kalatzis ES, Weiss J, Elsbach P. Preferential binding of the neutrophil cytoplasmic granule-derived bactericidal/permeability increasing protein to target bacteria. Implication and use as a means of purification. *J Immunol* 1989; 142:2807-12.
156. Elsbach P, Weiss J, Levy O. Intergration of antimicrobial host defense: role of the bactericidal/permeability-increasing protein. *Trends Microbiol* 1994; 2:324-8.
157. Marra MN, Wilde CG, Griffith JE, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein has endotoxin-neutralizing activity. *J Immunol* 1990; 144:662-6.
158. Schultz H, Weiss J, Carroll SF, Gross WL. The endotoxinbinding bactericidal/permeability-increasing protein (BPI): a target antigen of autoantibodies. *J Leukoc Biol* 2001; 69:505-12.
159. Esteve E, Castro A, Moreno JM, et al. Circulating bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is associated with serum lipids and endothelial function. *Thromb Haemost* 2010;103:780–787
160. Gubern C, López-Bermejo A, Biarnés J, et al. Natural antibiotics and insulin sensibility: the role of bactericidal/permeability-increasing protein. *Diabetes* 2006;55:216-24.
161. Moreno-Navarrete JM, Fernández-Real JM. Antimicrobial-Sensing Proteins in Obesity and Type 2 Diabetes: The buffering efficiency hypothesis. *Diabetes Care*. 2011;34(Suppl 2):S335-S341.doi:10.2337/dc11-s238.

162. Bleijerveld O, Wijten P, Cappadona S, et al. Proteome Profiling of Circulating Granulocytes Reveals Bactericidal/Permeability-Increasing Protein as a Biomarker for Severe Atherosclerotic Coronary Stenosis. *Journal of Proteome Research* 2012; 11 (11):5235-5244. DOI: 10.1021/pr3004375
163. Van der Schaft DW, Wagstaff J, Mayo KH, Griffioen AW. The antiangiogenic properties of bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) *Ann Med.* 2002;34:19-27.
164. Negroni M. *Microbiología Estomatológica.* 2ª ed. Editorial médica panamericana; 2009. p.166-183.
165. *Diccionario Médico.* 9ª ed. Barcelona España. Editorial Amanuense; 1990. p. 337.
166. Liébana Ureña J. *Microbiología Oral.* 2ª ed. Editorial McGraw -Hill Interamericana de España S.A.U; 2000, p130-137.
167. Inmunoglobulinas. URL disponible en: http://www.medicoscubanos.com/diccionario_medico.aspx?q=inmunoglobulina. Fecha de acceso: 27 de septiembre de 2011.
168. Cormack D. H. *Histología de Ham.* 9ª ed. México. Editorial organización panamericana de salud; 1988. p. 312 313.
169. Inmunología. URL disponible en: <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>. Fecha de acceso: 20 de septiembre de 2011.
170. Sakçak I, Avsar MF, Hamamci EO, et al. Comparison of early and later changes in immunoglobulins and acute phase reactants after laparoscopic adjustable gastric banding in patients with morbid obesity. *Obes Surg.* 2010; 20(5): 610-5. doi: 10.1007/s11695-009-0061-y. Epub 2010 Jan 12.
171. Duffaut C, Galitzky J, Lafontan M, Bouloumie A. Unexpected trafficking of immune cells within the adipose tissue during the onset of obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 384:482-485.
172. McDonnell ME, Ganley-Leal LM, Mehta A, et al. B lymphocytes in human subcutaneous adipose crown-like structures. *Obesity (Silver Spring)* 2012; 20:1372-1378.
173. Marzullo P, Minocci A, Giarda P, et al. Lymphocytes and immunoglobulin patterns across the threshold of severe obesity. *Endocrine* 2014 Apr;45(3):392-400. doi: 10.1007/s12020-013-0006-z. Epub 2013 Jun 26.
174. Wing EF, Stanko RT, Winkelstein A, Adibi SA. Fasting-enhanced immune effector mechanisms in obese subjects. *Am J Med.* 1983 Jul;75(1):91-6.
175. Fujimori M, França EL, Fiorin V, et al. Changes in the biochemical and immunological components of serum and colostrum of overweight and obese mothers. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2015;15:166. doi:10.1186/s12884-015-0574-4.
176. Jagannathan M, McDonnell M, Liang Y, et al. Toll-like receptors regulate B cell cytokine production in patients with diabetes. *Diabetologia* 2010; 53:1461-1471.

177. Säimpi M, Veneskoski M, Ukkola O, et al., Y. High Plasma Immunoglobulin (Ig) A and Low IgG Antibody Titers to Oxidized Low-Density Lipoprotein Are Associated with Markers of Glucose Metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95 (5): 2467-2475. doi: 10.1210/jc.2009-1858
178. Figueredo A, Ibarra JL, Rodriguez A, et al. Increased serum levels of IgA antibodies to HSP70 protein in patients with diabetes mellitus: their relationship with vascular complications. *Clin Immunol pathol* 1996 Jun;79(3):252-5.
179. Winer DA, Winer S, Shen L, et al. B cells promote insulin resistance through modulation of T cells and production of pathogenic IgG antibodies. *Nat Med* 2011; 17:610-617.
180. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, et al. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol* 2008; 151:42-50.
181. Smieja M, Gnarp J, Lonn E, et al. Multiple Infections and Subsequent Cardiovascular Events in the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study. *Circulation*.2003;107:251-257.
182. Phillips AC, Carroll D, Drayson MT, et al. Raised levels of immunoglobulin G, A and M are associated with an increased risk of total and cause-specific mortality: the Vietnam Experience Study. *J Epidemiol Community Health* 2015;69:129-135.
183. Liuba P, Persson J, Luoma J, et al. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media. *Eur Heart J*. 2003 Mar;24(6):515-21.
184. Kravets EB. Immunitari-endocrine relations in obesity in children. *Probl Endokrinol (Mosk)* 1988 Sep-Oct;34(5):11-4.
185. Marshall WA, Tanner JM: Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44:291-303.
186. Marshall WA, Tanner JM: Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45:13-23.
187. Formiguera X. Circunferencia de la cintura y riesgo cardiovascular en población española. *Clin Invest Arterioscl*. 2007;19:90-101.
188. Treuth MS, Butte NF, Wong WW, Ellis KJ: Body composition in prepubertal girls: comparison of six methods. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1352-1359.
189. Jaffrin MY, Morel H. Body fluid volumes measurements by impedance: A review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods. *Med Eng Phys*. Dec 2008;30(10):1257-69.
190. Paslakis G, Keuneke C, Groene H-J, et al. The putative role of human peritoneal adipocytes in the fight against bacteria: synthesis of the antimicrobial active peptide DEFA 1-3. *Nephron Exp Nephrol* 2010; 115:e96-100.

191. Aron-Wisnewsky J, Tordjman J, Poitou C, et al. Human adipose in subcutaneous tissue macrophages: m1 and m2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:4619-23.
192. Manco M., Fernandez-Real JM, Vecchio FM, et al. The decrease of serum levels of human neutrophil alpha-defensins parallels with the surgery-induced amelioration of NASH in obesity. *Obes Surg* 2010; 20: 1682. doi: 10.1007/s11695-010-0129-8.
193. Bdeir K, Cane W, Canziani G, et al. Defensin promotes the binding of lipoprotein (a) to vascular matrix. *Blood* 1999; 94 (6):2007-19.
194. Higazi AA, Ganz T, Kariko K, Cines DB. Defensins modulates tissue-type plasminogen activator and plasminogen binding to fibrin and endothelial cells. *J Biol Chem* 1996;271:17650-5.
195. Kougias P, Chai H, Lin PH, et al. Defensins and cathelicidins: Neutrophil peptides with roles in inflammation, hyperlipidemia and atherosclerosis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 2005; 9:3–10. doi:10.1111/j.1582-4934.2005.tb00332.
196. Barnathan ES, Raghunath PN, Tomaszewski JE, Ganz T, Cines DB, Higazi A. Immunohistochemical localization of defensins in human coronary vessels. *Am J Pathol* 1997; 150:1009-20.
197. Elsbach P. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in antibacterial host defense. *J. Leukoc Biol* 1998;64:14-8.
198. Kelly CJ, Cech AC, Argenteanu M, et al. Role of bactericidal permeability-increasing protein in the treatment of gram-negative pneumonia. *Surgery* 1993; 114:140-146.
199. Wiezer MJ, Langendoen SI, Meijer C, et al. Pharmacokinetics of a recombinant amino terminal fragment of bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) after liver surgery in rats and humans. *Shock* 1998; 10:161-166.
200. Yamashita M. Bactericidal/permeability-increasing protein ameliorates hypercoagulability after hemorrhagic shock *Thromb Res* 1997; 87:323-329.
201. Lin Y, Leach WJ, Ammons WS. Synergistic effects of a recombinant N-terminal fragment of bactericidal/permeability-increasing protein and cefamandole in treatment of rabbit gram-negative sepsis. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40:65-69.
202. Vandermeer TJ, Menconi MJ, O'Sullivan BP, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein ameliorates acute lung injury in porcine endotoxemia. *J Appl Physiol* 1994; 76:2006-2014.
203. Harkin DW, Barros D'Sa AA, McCallion K, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein attenuates systemic inflammation and acute lung injury in porcine lower limb ischemia-reperfusion injury. *Ann Surg* 2001; 244:233-244.

204. Levy O. A neutrophil-derived anti-infective molecule: bactericidal/permeability-increasing protein. *Antimicrob. Agents Chemother* 2000; 44:2925–2931.
205. Weiss J, Olsson I. Cellular and subcellular localization of the bactericidal/permeability-increasing protein of neutrophils. *Blood* 1987;69:652-9.
206. Weiss J, Elsbach P, Shu C, et al. Human bactericidal/permeability-increasing protein and a recombinant HN2-terminal fragment cause killing of serum-resistant gram-negative bacteria i whole blood and inhibit tumor necrosis factor release induced by the bacteria. *J Clin Invest* 1992;90:1122-30.
207. Van der Schaft DW, Toebes EA, Haseman JR, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) inhibits angiogenesis via induction of apoptosis in vascular endothelial cells. *Blood* 2000;96:176-81.
208. Nijhuis J, Rensen SS, Slaats Y, et al. Neutrophil Activation in Morbid Obesity, Chronic Activation of Acute Inflammation. *Obesity* 2009; 17: 2014–2018. doi:10.1038/oby.2009.113
209. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, et al. CD8+ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med* 2009; 15:914-920.
210. Rocha VZ, Folco EJ, Sukhova G, et al. Interferon-gamma, a Th1 cytokine, regulates fat inflammation: a role for adaptive immunity in obesity. *Circ Res* 2008; 103:467-476.
211. Winer S, and Winer D.A. The adaptive immunitari system as a fundamental regulator of adipose tissue inflammation and insulin resistance. *Immunol Cell Biol* 2012; 90:755-762.
212. Caspar-Bauguil S, Cousin B, Galinier A, et al. Adipose tissues as an ancestral immunitari organ: site-especific change in obesity. *FEBS Lett* 2005; 579:3487-3492.
213. Kelley DS, Daudu PA, Branch LB, et al. Energy restriction decreases number of circulating natural killer cells and serum levels of immunoglobulins in overweight women. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48:9-18.
214. Okamatsu Y, Matsuda K, Hiramoto I, et al. Ghrelin and leptin modulate immunity and liver function in overweight children. *Pediatr Int* 2009; 51:9-13.
215. Ding S, Chi MM, Scull BP, et al. High-fat diet: bacteria interactions promote intestinal inflammation which precedes and correlates with obesity and insulin resistance in mouse. *PLoS One* 2010; 5:e12191.
216. Fagarasan S. Evolution, development, mechanism and function of IgA in the gut. *Curr Opin Immunol* 2008; 20:170-177.
217. Mohammed N, Tang L, Jahangiri A, et al. Elevated IgG levels against specific bacterial antigens in obese patients with diabetes and in mice with diet-induced obesity and glucose intolerance. *Metabolism* 2012; 61:1211-1214.
218. Mouzaki A, Panagoulas I, Raptis G, and Farri-Kostopoulou, E. Cord blood leptin levels of healthyneonates are associated with IFN-gamma production by cord blood T-cells. *PLoS One* 2012; 7:e40830.

219. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006; 444:860–7.
220. Bouman A, Heineman MJ, Faas MM. Sex hormones and the immunitari response. *Hum Reprod Update*. 2005;11:411–23.
221. Lumeng CN, Deyoung SM, Bodzin JL, and Saltiel AR. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes* 2007; 56:16-23.