



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Scuola di Dottorato in Scienze biochimiche, nutrizionali e metaboliche

**Dipartimento Di Medicina Chirurgia e Odontoiatria
Polo Universitario S. Paolo**

**Dottorato di Ricerca in Fisiopatologia, Farmacologia, Clinica e Terapia
delle Malattie Metaboliche – XXIII Ciclo**

**CRESCITA ED INDICI METABOLICI PRECOCI DELLO STATO
NUTRIZIONALE IN FIGLI DI MADRI DIABETICA
MED/38**

Gaia Francescato

Matr. R07526

Tutor: Chiar.mo Prof. Carlo Virginio Agostoni

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Anna Maria Di Giulio

Anno Accademico 2009-2010

Sommario

ABSTRACT.....	3
INTRODUZIONE.....	5
SCOPO DELLO STUDIO	44
PAZIENTI E METODI.....	45
ANALISI STATISTICA.....	52
RISULTATI.....	53
DISCUSSIONE	67
CONCLUSIONI.....	71

ABSTRACT

E' stato recentemente osservato che il diabete materno in gravidanza rappresenta per il bambino un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di obesità, diabete tipo 2 e sindrome metabolica. Altri fattori quali l'obesità materna, la macrosomia fetale ed una precoce accelerazione della crescita ponderale determinano un ulteriore incremento del rischio relativo.

Dato l'incremento esponenziale nell'incidenza di obesità e sindrome metabolica in età pediatrica osservato negli ultimi decenni, in particolare nei paesi industrializzati, si ritiene sia fondamentale disporre di markers antropometrici e metabolici in grado di individuare i soggetti maggiormente a rischio, e conoscere il timing ottimale per l'applicazione di interventi di prevenzione.

Questo studio longitudinale si è proposto di valutare se nei figli di madre diabetica sia riscontrabile un pattern di crescita anomalo, ed in particolare un elevato incremento ponderale già nel corso del primo anno di vita, e se sia individuabile una correlazione tra il pattern di crescita ed alcuni markers biochimici del metabolismo che possono essere influenzati nel neonato dallo stato di iperinsulinismo fetale.

Sono stati reclutati 56 nati da madre diabetica sia a termine che pretermine. Ciascun neonato è stato valutato per il suo assetto metabolico-nutrizionale (monitoraggio glicemico, elettroliti, insulina, trigliceridi, colesterolo, acidi grassi, azotemia e retinol-binding protein) nei primi giorni di vita. Sul piano auxologico (peso, lunghezza,

circonferenza cranica, circonferenza addominale e plica tricipitale) sono state eseguite valutazioni alla nascita e a 1, 3, 6 e 12 mesi. Quali cofattori sono state inoltre studiate le più frequenti complicanze a breve termine della condizione di “figlio di madre diabetica”, come ad esempio policitemia e sindrome da distress respiratorio, ed i fattori di rischio più approfonditamente studiati per diabete tipo 2 obesità e sindrome metabolica nell’infanzia, come BMI dei genitori e macrosomia fetale.

Il pattern di crescita del campione è risultato in linea con le curve di crescita della popolazione infantile normale.

E’ stato osservato un maggior incremento ponderale nei figli di madre insulinodipendente, in particolare nei primi mesi di vita.

Sul piano biochimico sono stati riscontrati valori più elevati di Retinol Binding Protein tra i figli di madre con diabete insulinodipendente, valori che appaiono positivamente correlati con i parametri di peso a 12 mesi.

Il riscontro di parametri di crescita entro i limiti di normalità e la bassa incidenza di complicanze a breve termine nel campione analizzato rispetto a quanto riportato in letteratura sono verosimilmente da attribuirsi ad un’applicazione efficace dei protocolli di monitoraggio e di prevenzione in gravidanza e nelle prime epoche neonatali.

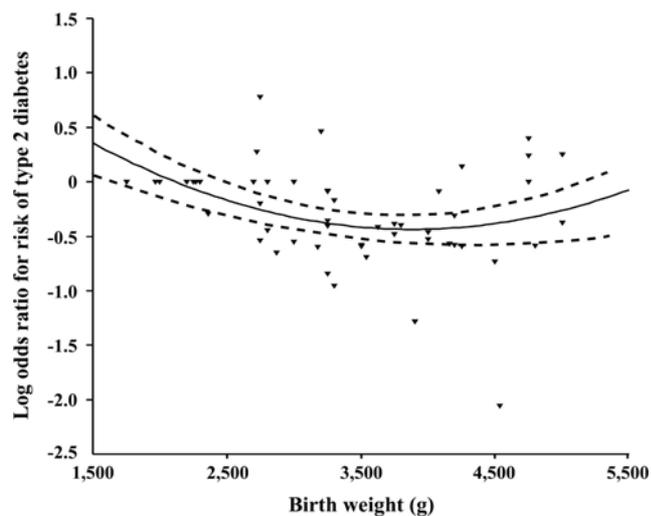
I dati di laboratorio vanno a supporto dell’ipotesi che la Retinol Binding Protein possa essere utilizzata per individuare i soggetti a maggior rischio di sviluppo di sindrome metabolica e passibili di intervento nutrizionale precoce.

INTRODUZIONE

PREMESSA

Gli studi di popolazione che più ampiamente hanno contribuito all'individuazione dei fattori predisponenti l'insorgenza di diabete tipo 2 (DM2), obesità e sindrome metabolica (MS) in età pediatrica sono quelli relativi alle popolazioni indigene del nordamerica, in cui la prevalenza di queste patologie e di diabete gestazionale, è più elevata rispetto alla popolazione generale (1).

Un primo risultato storico è stato il riscontro di un'associazione non lineare, U-shaped, tra peso alla nascita e diabete di tipo 2, che comporta un incremento del rischio sia per i nati di peso elevato (LGA: OR =1.27) che per i nati di basso peso (SGA) per l'età gestazionale.



Harder T et al. Am. J. Epidemiol. 2007;165:849-857

Questi risultati hanno avvalorato la teoria, oggi estesamente accettata dalle comunità accademiche, che le modificazioni dell'ambiente metabolico-nutrizionale intrauterino e postnatale precoce hanno un impatto sulla determinazione dei processi vitali fondamentali e sul rischio di sviluppo di malattie a lungo termine, e che la programmazione del rischio

cardiovascolare e dell'obesità nell'età adulta avviene già durante la vita intrauterina (Barker Hypothesis o Thrifty Phenotype Hypothesis) **(2-7)**.

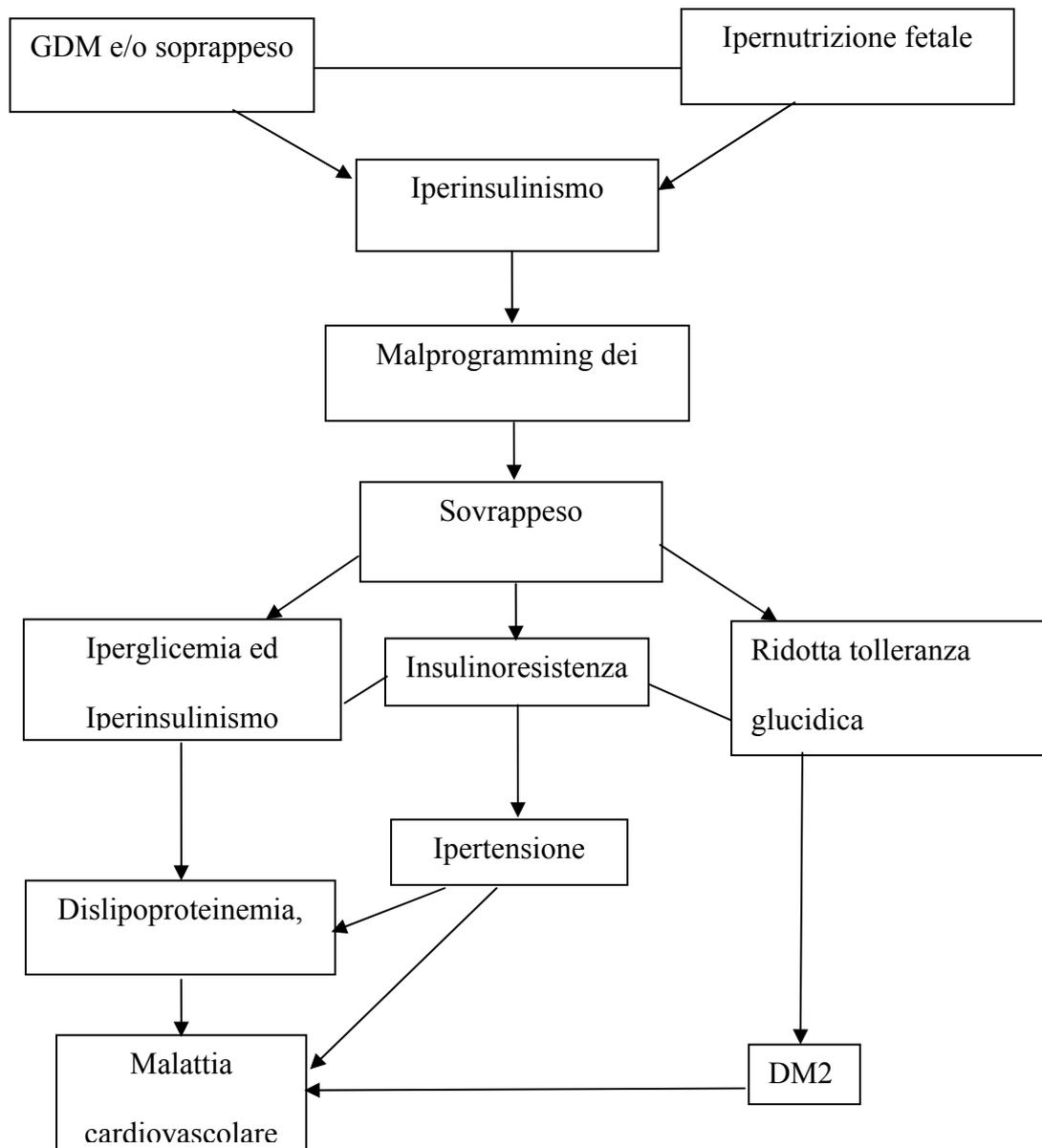
I meccanismi fisiopatologici alla base di tale rischio sono tuttora fonti di intenso dibattito interdisciplinare. A partire dagli anni '70, numerosi studi clinici e sperimentali hanno contribuito a dimostrare che alcuni fattori ormonali presenti in concentrazioni sovralfisiologiche possono determinare nella vita endouterina o nelle prime fasi della vita postatale alterazioni del sistema neuroendocrino agendo anche da "teratogeni endogeni funzionali" con un effetto di "malprogramming".

Da studi su indiani nordamericani è emersa, inoltre un'aumentata prevalenza di DM2 in età giovanile ed obesità pediatrica tra i figli di madre diabetica in confronto ai figli di madri non diabetiche ed anche a figli di madri cosiddette "prediabetiche", che hanno cioè sviluppato un DM2 solo dopo la gravidanza **(3)**.

Più recentemente, la condizione di diabete gestazionale associata alla macrosomia in una popolazione di diadi mamma-bambino di origini caucasiche, è stata messa in relazione con un aumentato rischio di sindrome metabolica in età pediatrica (a 11 anni; Hazard Ratio 2.19); tale rischio è aumentato anche in caso di obesità materna di un fattore pari a 1.8 **(4)**.

Inoltre, studi su modelli animali hanno confermato che l'esposizione ad un ambiente iperglicemico in utero porta a ridotta tolleranza glucidica, iperinsulinismo ed insulinoresistenza nella prole in età sia giovanile che adulta, indipendentemente dalla predisposizione genetica dei soggetti **(5)**. Si potrebbe quindi parlare di trasmissione materno-fetale epigenetica.

Il possibile quadro patogenetico su cui si basa il suddetto fenomeno è riportato nell'algoritmo che segue, modificato da Plagemann A., J of Maternal Fetal & Neonatal



E' noto che sia il DM2 che la sindrome metabolica hanno origini multifattoriali, cui partecipano la predisposizione su base genetica e lo sviluppo di soprappeso e obesità, a loro volta dipendenti da altri fattori quali ad esempio il livello socio-culturale familiare, l'etnia, lo stile di vita, l'attività fisica. Su alcuni di questi fattori è possibile agire con

interventi terapeutici.

Ci si chiede se sia possibile individuare un timing ottimale entro il quale mettere in atto degli interventi di prevenzione già in epoca fetale e neonatale.

L'attuale sfida della comunità scientifica è infatti quella di individuare precocemente i fattori di rischio per queste patologie che a causa della loro diffusione crescente in età pediatrica vengono ormai definite l'"emergenza delle patologie dell'età adulta nell'adolescenza", e la migliore finestra temporale entro la quale intervenire per prevenirle.

Esistono almeno 3 periodi critici per lo sviluppo dell'obesità: il periodo gestazionale, il periodo tra i 3 e i 6 anni di età (Adiposity Rebound) e la pubertà **(9)** ma i primi mesi di vita sono sicuramente il momento migliore per intraprendere un intervento sull'alimentazione e sulla crescita.

E' già stato sottolineato che i figli di madre diabetica presentano una crescita ponderale aumentata, ma tale riscontro è evidenziabile solo in età prescolare e scolare: Silverman et al sono stati tra i primi a seguire figli di madre diabetica in un lungo follow up dalla nascita fino agli 8 anni di età, dimostrando che a partire dal quinto anno di età il peso aumenta e a 8 anni circa il 50% dei figli di madre diabetica raggiunge un peso attorno al 90° percentile. Il peso durante l'adolescenza e il peso materno pregestazionale, la concentrazione insulinica nel liquido amniotico e livelli di Peptide C nel sangue cordonale sono possibili markers di rischio **(8)**.

Stetter ha valutato retrospettivamente una coorte di 650 neonati presunti sani allattati artificialmente, identificando in una fase estremamente precoce della vita, ossia nel periodo compreso tra la nascita e gli 8 giorni il momento in cui l'aumento di peso è determinante nel predire lo sviluppo di obesità adolescenziale: ogni 100 grammi di aumento di peso nei

primi giorni aumenterebbero il rischio di sovrappeso a 7 anni del 30% (OR=1.28) **(9)**. Ci si chiede se tale modello di rischio relativo ad un'aumentata crescita ponderale neonatale possa essere a maggior ragione applicabile ai figli di madre diabetica.

Per comprendere la complessità delle complicanze fetali, neonatali e pediatriche cui è sottoposto il nato da madre diabetica, è necessario conoscere i fondamentali aspetti epidemiologici, eziopatogenetici, fisiopatologici, clinici e farmacologici della patologia diabetica in gravidanza.

DEFINIZIONE

Il Diabete Mellito Gestazionale (GDM) è un'intolleranza ai carboidrati di severità variabile insorto o individuato per la prima volta durante la gravidanza. Tale definizione è indipendente dalla terapia di cui necessita (dietetica o insulinica) e dalla sua persistenza oltre il termine della gravidanza.

Il diabete in gravidanza rappresenta uno dei maggiori fattori di rischio feto-neonatale. Interessa il 5-8% delle gravidanze e comporta una mortalità fetale pari al 5-10% (10).

EZIOPATOGENESI

La gravidanza è già di per sé una condizione diabetogena.

La glicemia fetale è normalmente mantenuta di 20-30 mg/dL più bassa di quella materna, salvo in caso di iperglicemia materna al di sotto delle 20 settimane di gestazione, epoca al di sotto della quale le insulae pancreatiche fetali non sono in grado di secernere insulina in risposta ad un milieu iperglicemico. Oltre le 20 settimane, l'iperglicemia materna e la conseguente iperglicemia fetale comportano invece una risposta pancreatica da parte del feto, con aumentata sintesi da parte del pancreas fetale di Insulina e proinsulina (IGF-1), che in presenza di elevati substrati in particolare proteici, determinano un'aumentata crescita fetale, portando alla macrosomia. L'elevata crescita interessa generalmente la massa grassa, il fegato e il miocardio. Non interessa invece l'encefalo e non ha effetti sulla crescita cranica. Con il procedere della gravidanza, la placenta produce in quantità sempre maggiori ormoni contro regolatori dell'insulina, aumentandone così le richieste. Tuttavia le aumentate richieste non possono essere che in parte soddisfatte. Inoltre, in gestanti con particolare predisposizione genetica, si instaurerebbe una condizione di insulinoresistenza

in grado di mantenere il feto in una condizione iperanabolica costante.

Altri fattori coinvolti

Studi con casistiche meno ampie hanno dimostrato un aumento del TNF α e della PCR e della LEPTINA e una riduzione dell'adiponectina nella sindrome metabolica e diabete tipo 2 **(11)**.

IL TNF α , prodotto dai macrofagi attivati e implicato nei processi infiammatori tumorali, è sintetizzato anche dal tessuto adiposo, più esattamente dal tessuto stromale. I soggetti obesi infatti, presentano una maggior espressione di TNF mRNA. Elevati livelli di TNF α , non secondari a condizioni patologiche, giocano un ruolo patogenetico importante nel metabolismo glucidico **(11)**. L'interesse della ricerca si è focalizzato sui suoi effetti biologici nei confronti del tessuto adiposo, dimostrando l'espressione del suo mRNA nel tessuto adiposo di animali e soggetti umani. Esiste una correlazione diretta tra l'espressione di TNF α , adiposità totale, iperinsulinemia a digiuno e livelli di trigliceridi. Il TNF α infatti, inibisce la cascata del segnale dell'insulina e altre proteine regolatorie come Substrati del Recettore Insulinico (IRS) a livello del muscolo scheletrico. Inibisce la differenziazione degli adipociti tramite down regulation d'importanti fattori di trascrizione come PPR γ e C/EBP α , la produzione di adiponectina da parte degli adipociti maturi e sopprime l'attività della LPL. Attiva la fosforilazione dell'Insuline Receptor Substrate-1 (IRS-1), inibendo la tirosin-kinasi del recettore insulinico e stimola la lipolisi e l'aumento dei livelli plasmatici di NEFA con conseguente sviluppo di insulino-resistenza. **(12)**.

Altro ormone dall'adipocita bianco, specialmente negli stadi più differenziati, nel tessuto bruno e nella placenta (dove agirebbe come sistema di segnalazione dello stato di nutrizione materna nei confronti del feto), è la LEPTINA. Il sistema nervoso centrale è il

principale bersaglio di questa proteina che agisce come un “lipostato”, segnalando al nucleo arcuato ipotalamico l’entità del contenuto lipidico del tessuto adiposo, in modo tale da mantenere costante l’adiposità corporea **(12)**. La leptina può agire sui centri fame e sazietà in maniera indiretta, tramite la modulazione dell’attività di altri neurotrasmettitori come noradrenalina, dopamina, serotonina e GABA. Funzioni complementari della leptina sono la regolazione della funzione neuroendocrina dell’asse ipotalamo-ipofisi-surrene; i suoi livelli sono correlati alla modulazione della secrezione dell’ACTH e del cortisolo e alla maturazione del sistema riproduttivo, agendo come elemento di connessione tra lo stato nutrizionale e la funzione riproduttiva.

I livelli di Leptina sono, in valore assoluto, direttamente proporzionali all’adiposità totale corporea; la secrezione è pulsatile, varia con ritmo circadiano e mostra un chiaro dimorfismo sessuale, con valori più alti nelle femmine rispetto ai maschi e variazioni significative durante le varie fasi del ciclo mestruale. E’ influenzata dalle richieste energetiche, dall’introito calorico e in particolare dal contenuto di macronutrienti nella dieta: diminuisce con il digiuno e in corso di diete ipocaloriche, indipendentemente dalle variazioni del compartimento adiposo. Il deficit di leptina o del suo recettore, per mutazioni puntiformi dei relativi geni, è stato associato a grave obesità e ipogonadismo familiare,

Nei pazienti obesi l’aumento di leptina si correla con l’insulino-resistenza: i soggetti con massa adiposa maggiore sono iperleptinemici e insulino-resistenti.

Sulla base di queste osservazioni, è stato ipotizzato un possibile ruolo della leptina come modulatore della sensibilità all’insulina. I livelli di leptina circolanti ben si correlano con la massa adiposa totale e l’insulinoresistenza è proporzionale alla massa adiposa viscerale **(12)**, ma allo stato attuale non sembra che l’aumento della leptina circolante abbia un ruolo

nella patogenesi della resistenza insulinica e del diabete.

L'insulino-resistenza può essere considerata a tutti gli effetti un disordine poligenico e il gene della RESISTINA potrebbe ovviamente essere il candidato ideale, infatti alcuni polimorfismi del loco genico della Resistina sono associati ad obesità e sensibilità insulinica.

La Resistina, così chiamata perché capace di aumentare l'insulino-resistenza, è una molecola indotta dall'adipogenesi e secreta dagli adipociti (tessuto adiposo bianco) **(13)**.

I mediatori dell'infiammazione come TNF α , IL1 β E IL-6 possono aumentare l'espressione della Resistina. La Resistina controlla la tolleranza glucidica meglio dell'insulina, induce apoptosi delle cellule β che può esitare in Diabete tipo 2. E' un ormone controinsulare attivo principalmente su fegato, muscolo scheletrico e adipociti.

Si è dimostrata in grado di modulare il trasporto di glucosio mediato dall'insulina. Il meccanismo attraverso cui è in grado di controllare l'omeostasi glicemica è molto interessante: non influenza il legame con l'insulina e nemmeno il numero assoluto dei recettori dell'insulina, ma riduce la fosforilazione insulinodipendente dei recettori dell'insulina, riducendo così l'attività della via di trasmissione del segnale insulinico e della glicogeno-sintetasi, aumentando, invece l'attività della glicogeno-fosforilasi con successiva deplezione delle scorte di glicogeno epatico **(13), (14)**.

L'espressione della Resistina nel tessuto adiposo di soggetti obesi diabetici è maggiore rispetto a soggetti sani, ed è proporzionale alla massa grassa ma non correla con il BMI **(14)**.

La classe di antidiabetici orali tiazolidindioni (detti anche glitazoni) si lega al recettore espresso nei nuclei degli adipociti chiamato RECETTORE GAMMA ATTIVATO DEL PROLIFERATORE DEL PEROSSISOMA (PEROXISOME PROLIFERATOR ACTIVATOR RECEPTOR Γ – PPAR Γ) (15) membro di una superfamiglia di recettori nucleari steroidei implicati nella regolazione del metabolismo lipidico e glucidico e nel controllo dei fenomeni infiammatori che accompagnano l'aterosclerosi. Trascrivono di svariati geni mediante la formazione di eterodimeri con il recettore per l'acido 9-cis retinico (RXR).

Il PPAR- γ si avvale di un coattivatore PGC-1 per il quale esiste un polimorfismo geneticamente determinato presente in soggetti obesi o con una storia familiare di diabete tipo2 .

Il PGC-1 è un coattivatore trascrizionale essenziale per la sintesi degli enzimi mitocondriali che servono per la β -ossidazione degli acidi grassi. Se esiste un difetto dell'attività del PGC-1 l'ossidazione degli acidi grassi intracellulari è difettosa, i trigliceridi tendono ad accumularsi nelle cellule: questo spiega l'insulino-resistenza e l'associazione tra diabete tipo 2 e l'aumento del grasso corporeo fino all'obesità (16).

I glitazoni hanno dimostrato una notevole attività modulatoria sui processi immunitari ed infiammatori. Il trattamento con i ligandi di PPAR- γ infatti inibisce la produzione di molecole pro-infiammatorie quali TNF-alfa, IL-1beta e IL-6, con un meccanismo che coinvolge l'interazione con fattori trascrizionali come NF-kB, AP - 1 e STAT - 1.

Un polimorfismo relativamente comune della isoforma PPAR γ 2 (sostituzione amino-terminale di alanina per prolina al codone 12) (Pro12Ala) sembra avere un ruolo protettivo contro il rischio di sviluppare T2DM. Questa ipotesi è coerente con l'osservazione che l'isoforma PPAR γ 2 ha un ruolo importante nella regolamentazione dell'adipogenesi (Ren

et al., 2002).

EPIDEMIOLOGIA

In conseguenza di questi fenomeni patogenetici, in epoche precedenti lo sviluppo di interventi terapeutici e di monitoraggio della gravidanza per la prevenzione delle complicanze, i dati di mortalità feto-neonatale erano impressionanti: il 65% dei figli di madri diabetiche andava incontro a decesso in utero o nell'immediato periodo postnatale. E' ragionevole ritenere che una condizione simile si verifichi ancora oggi nei paesi in via di sviluppo.

Dati epidemiologici indicano che il GDM è una patologia ad elevata frequenza, mostrando una sensibile variabilità in relazione alle diverse razze ed etnie esaminate: poco frequente negli Americani di origine africana (prevalenza 1,7%), nella popolazione bianca della California (1,6%) e nella razza caucasica in genere (1,5%), ha invece una elevata prevalenza nella tribù indiana Zuni del Nuovo Messico (14,5%), nelle popolazioni asiatiche e del subcontinente indiano (7-14%).

Indipendentemente dalla diversa distribuzione geografica, il GDM è poco frequente sotto i 25 anni di età, mentre interessa oltre il 10-20% delle donne con età maggiore di 35 anni. Probabilmente a causa delle mutate abitudini alimentari e per l'aumentata età media delle gestanti, la frequenza del GDM è aumentata sensibilmente negli ultimi decenni, con un raddoppio dei tassi di incidenza in tutti i gruppi etnici.

Negli ultimi anni diverse sono state le esperienze epidemiologiche maturate in Italia. Tra i primi studi eseguiti e presenti in letteratura, merita menzione lo studio retrospettivo di Scandiano (1982-91) che ha stimato la prevalenza del GDM al 2,2-2,3%, mentre In Umbria

ed in Lombardia la prevalenza è risultata rispettivamente del 5,6 e del 12,7%. Un' elevata prevalenza (10,8%) è stata registrata anche a Padova, dove nei casi maggiormente a rischio per GDM la diagnostica è stata ripetuta alla 30°-34° settimana di gestazione. Questo dato suggerisce che, specie nei casi con importanti fattori di rischio, una rivalutazione tardiva rispetto a quella prevista, permette una maggiore identificazione del GDM. Altri studi, condotti a Vicenza e a Massa, indicano una prevalenza compresa tra il 3 e il 4%. Infine, uno studio multicentrico in Toscana ha sottoposto a screening universale 2750 gravide e la prevalenza del GDM è risultata del 6,32%; i casi con ridotta tolleranza sono stati il 6,1%; quindi oltre il 12% delle donne studiate, ha presentato alterazioni del metabolismo glucidico in gravidanza. L'analisi globale degli studi riportati, pur mostrando una variabilità di risultati da collegarsi in primo luogo alle diverse metodiche usate, permette di stimare la prevalenza del GDM in Italia intorno al 6%.

Indipendentemente dalla diversa distribuzione geografica, il GDM è poco frequente sotto i 25 anni di età, mentre interessa oltre il 10-20% delle donne con età maggiore di 35 anni. Probabilmente a causa delle mutate abitudini alimentari (fenomeno definito dall'OMS come "transizione nutrizionale", corrispondente ad una maggiore disponibilità di alimenti ad un costo inferiore e a minor abitudine all'attività fisica) e per l'aumentata età media delle gestanti, la frequenza del GDM è aumentata sensibilmente negli ultimi decenni anche nei paesi in via di sviluppo, con un raddoppio dei tassi di incidenza in tutti i gruppi etnici.

CLASSIFICAZIONE

L'American College of Obstetrician and Gynecologists ha proposto la seguente classificazione:

GD in dietoterapia (non insulin-treated gestational diabetes mellitus, NIT-GDM): I valori di glicemia sono inferiori a 105 mg/dl, è possibile mantenere un buon controllo della glicemia con la dieta;

GD in insulinoterapia (insulin-treated gestational diabetes mellitus, IT-GDM): la dieta non è più sufficiente a mantenere la glicemia di sotto il valore soglia di 105 mg/dl.

Classe A: intolleranza glucidica già nota prima della gravidanza, in dietoterapia. Macrosomia durante una precedente gravidanza, morte fetale oltre la 28esima settimana di età gestazionale.

Classe B: diabete insulinodipendente insorto dopo i 20 anni di età; durata della patologia inferiore a 10 anni.

Classe C1 diabete insorto tra i 10 e i 19 anni di età;

C2 storia della patologia tra 10 e 20 anni;

Classe D1 insorto prima dei 10 anni di età;

D2 durata superiore a 20 anni;

D3 Angiopatia, presenza di calcificazioni vascolari;

D4 microangiopatia, retinopatia;

D5 ipertensione (preeclampsia);

Classe F nefropatia con proteinuria > di 500 mg al giorno;

Classe R retinopatia proliferativa;

Classe G: aborti spontanei multipli;

Classe H evidenze cliniche di aterosclerosi e cardiopatia **(10)**.

Rientrano nelle classi B-H le donne con diabete pregestazionale, tipo 1 o tipo 2.

DIAGNOSI

Va premesso che una determinazione di glicemia a digiuno ≥ 126 mg/dl oppure ≥ 200 mg/dl postprandiale è sufficiente per porre diagnosi di diabete in qualsiasi condizione compresa la gravidanza.

Nel 1997 sono state stilate delle linee guida che permettono di suddividere la popolazione tre classi di rischio in base ai dati anamnestici della donna e ai fattori di rischio legati alla gravidanza in corso.

(Fonte: 40° Workshop Internazionale sul Diabete Gestazionale)

BASSO RISCHIO, per i quali non il test da carico di glucosio non è richiesto di routine.

- gruppo etnico con bassa prevalenza di GDM
- età < 25 anni
- peso normale prima della gravidanza;
- non storia di anomalo metabolismo glucidico;

- non storia di abortività.

Le pazienti a basso rischio, senza intolleranza glucidica nota si possono sottoporre allo screening tra la 24-28esima settimana di età gestazionale

RISCHIO AUMENTATO: è necessario effettuare il test da carico tra la 24-28 esima settimana di gravidanza.

- Donne ispaniche, africane, native americane, asiatiche: rischio aumentato;
- Donne con familiarità di 1° grado per diabete; età >30 anni; obesità (BMI \geq 28); pregresso GDM;

RISCHIO ALTO: eseguire il test il prima possibile, se non diagnostico per diabete, ripetere il test a 24-28 settimane oppure non appena compaiono sintomi.

- pregressa macrosomia (\geq 4kg) o LGA (>90° %ile);
- mortalità perinatale per causa ignota.
- sovrappeso;
- ipertensione arteriosa;
- due o più aborti spontanei;
- polioidramnios;
- gestosi;
- elevata parità;
- parti pretermine.
- Altri fattori sono collegati all'attuale gravidanza:
 - incremento ponderale > 12 kg nel primo trimestre e/o 400 grammi alla settimana nel 2°-3°trimestre;
 - ricorrente glicosuria a digiuno;

- poliidramnios;
- crescita fetale accelerata e dismorfica

Per la diagnosi del diabete gestazionale lo screening è stato codificato in un test da carico glucidico denominato Oral Glucose Challenge Test o OGCT o minicurva che comporta l'assunzione di 50 grammi di glucosio in 200 ml di acqua ed il dosaggio della glicemia a 60' dal carico. Il test è da effettuarsi in tutte le gravidanze dalla 24° alla 28° settimana di gestazione, salvo particolari condizioni di rischio in base alle quali può essere anticipato. Nelle gravide ad alto rischio (marcata obesità, alterazioni minori della tolleranza glucidica prima della gravidanza, DG in precedenti gravidanze, pregressa macrosomia neonatale, mortalità perinatale da causa non nota) lo screening viene effettuato nelle prime settimane di gravidanza (14^a-16^a) e, se negativo, viene ripetuto tra la 24^a e la 28^a settimana.

Se il valore di glicemia a 1 ora è maggiore di 140 mg/dl si esegue il test diagnostico completo denominato Oral Glucose Tolerance Test o OGTT o curva da carico orale che prevede l'assunzione di 100 grammi di glucosio in 200 ml di acqua e il successivo dosaggio della glicemia a 60', 120' e 180'. Il test viene valutato secondo i criteri stabiliti da Carpenter e Coustan riportati in Tabella 1. La positività della curva è diagnostica per il diabete gestazionale. La sua negatività non esclude la diagnosi; un ulteriore OGTT andrebbe programmato a 32-34 settimane (Tabella 1).

Tabella 1. Diagnosi di Diabete Gestazionale con carico orale di glucosio (OGTT) 100 gr

Tempo	Glicemia (mg/dl)
0	95
60'	180
120'	155
180'	140

È utile associare alla curva da carico anche il dosaggio della Emoglobina Glicosilata (HbA1C). L'iperglicemia porta ad un legame non enzimatico del glucosio con un certo numero di proteine (glicazione), virtualmente reversibile in condizioni fisiologiche. La concentrazione dell'HbA1C è un indice del livello medio di glucosio ematico, durante il tempo di emivita della proteina. Essa riflette la glicemia media nei due mesi precedenti la misurazione, cioè per il tempo di emivita dell'emoglobina. La concentrazione della HbA1C viene espressa in percentuale sul totale: valori inferiori o uguali al 7% indicano un buon controllo glicemico.

I valori di HbA1C sono proporzionali all'iperglicemia materna, soprattutto durante il primo e secondo trimestre di gravidanza. Si correlano direttamente alla qualità del controllo glicemico: elevati livelli di HbA1C sono predittivi di elevato rischio di malformazioni congenite (vedi oltre).

INTERVENTO TERAPEUTICO

Il trattamento del diabete gestazionale è complesso e richiede un approccio multidisciplinare. Sono chiamati a collaborare il diabetologo, il ginecolgo-ostetrico, il neonatologo e il dietologo nutrizionista con un unico scopo: mantenere i livelli di glucosio nel range di normalità e ridurre la morbidity sia della madre che del feto **(17)**.

Una volta diagnosticato il Diabete Gestazionale bisogna istruire la donna al monitoraggio quotidiano della glicemia, in modo tale da avere un quadro generale dell'andamento glicemico durante la giornata, indipendentemente dalla necessità o meno di terapia insulinica.

Il principale intervento terapeutico è di tipo nutrizionale. E' necessario impostare piani nutrizionali individualizzati per evitare accessi per glicemici, oppure episodi di ipoglicemia. La Dieta quotidiana deve rispondere alle esigenze della paziente e associarsi ad una corretta e costante attività fisica della durata di almeno 30 minuti al giorno **(18)**. Il Committee on Maternal Nutrition of the National Research Council raccomanda un apporto calorico di 30-35 Kcal/kg calcolate in base al peso ideale, suddivisi in 3 pasti principali e tre spuntini **(19)**. Lo scopo dell'intervento nutrizionale deve essere quello di promuovere un corretto aumento ponderale durante la gravidanza, il mantenimento di normali valori di glicemia, prevenire la chetoacidosi.

Diete eccessivamente restrittive possono dare chetonuria e interferire con l'accrescimento fetale (neonati piccoli per l'età gestazionale- SGA) **(20)**.

A partire dal secondo trimestre è necessario valutare ogni 2 o 4 settimane al massimo la circonferenza addominale fetale, che insieme al report delle glicemie permette di ottimizzare la terapia. Trials randomizzati infatti hanno dimostrato che modificando la

terapia sulla base della curva di crescita fetale si ottengono risulta migliori in termini di outcome neonatale **(21)**.

Qualora l'intervento nutrizionale non fosse sufficiente a controllare la glicemia, durante 2 settimane di follow-up si siano presentati almeno due episodi di iperglicemia non controllata e un riscontro ecografico di macrosomia, allora è necessario ricorrere ad un trattamento farmacologico. Nella maggior parte dei casi il farmaco di scelta è l'Insulina Umana, o analoghi ad azione rapida (insulina lispro o glargina). Questi ultimi attraversano la barriera placentare solo minimamente, senza alcuna evidenza di teratogenicità.

Il 4% circa dei farmaci antidiabetici orali della famiglia delle Sulfaniluree e Biguanidi invece, attraversano la barriera placentare, ma senza aumentare l'incidenza dell'ipoglicemia neonatale. Possono essere pertanto considerati una valida alternativa all'insulina **(22) (23)**.

E' importante che la donna si sottoponga ad un follow up a lungo termine per individuare precocemente i segni di intolleranza glucidica. Una buona percentuale di donne con GDM presenta tutte le caratteristiche proprie della sindrome metabolica, non solo intolleranza glucidica, ma anche resistenza insulinica, obesità centrale, livelli elevati di trigliceridi, bassi valori di HDL e rialzo dei marker dell'infiammazione e circa il 35-60% delle donne con diagnosi di Diabete Gestazionale, sviluppa Diabete di tipo 2 conclamato dopo 10 anni **(18)**.

IL FIGLIO DI MADRE DIABETICA

La prevalenza di aborto e mortalità perinatale è circa 5 volte quella della popolazione generale; il diabete gestazionale è infatti uno dei maggiori fattori di rischio di morte fetale, soprattutto in caso di scarso controllo metabolico ed eccessivo rialzo glicemico post-prandiale (classe A2 di Withe) **(19)**, ed in caso di BMI materno > 30 kg/m² (OR 2,8) **(21)**.

La mortalità neonatale ed infantile sono rispettivamente 15 e 3 volte quelle della popolazione generale;

I figli di madri con IT-GDM:

sono 3 volte più a rischio di nascere con parto cesareo; a seconda dei protocolli di management ostetrico applicati la percentuale di parti operativi varia dal 25 all'80% **(24)**.

hanno il doppio di probabilità di avere traumi ostetrici.

Sono 8 volte più a rischio di Malformazioni congenite: l'iperglicemia è teratogena e causa danni diretti al feto. Il 25% dei feti morti presenta anche malformazioni maggiori e incompatibili con la vita. I risultati di studi in vitro (cultura di embrioni) e di esperimenti su modelli animali indicano che la causa delle malformazioni congenite è multifattoriale (Tabella 2).

Tabella 2. Frequenza delle malformazioni maggiori in neonati nati dopo gravidanza complicata o non complicata da diabete (25)

TIPO DI DIABETE MATERNO	NUMERO PAZIENTI	MALFORMAZIONI FETALI MAGGIORI (%)
Non diabete	142509	2075 (1,5)
Diabete pregestazionale	401	25 (6,1)
Diabete gestazionale (A1)	2047	21 (1,2)
Diabete gestazionale (A2)	230	11 (4,8)

In caso di diabete pre-gestazionale sono chiamati in causa l'iperglicemia, eccesso di chetoni e prodotti della glicosilazione non enzimatica delle proteine (AGE) che alterano le vie di trasmissione del segnale producendo effetti avversi sull'embriogenesi. L'iperglicemia favorisce la formazione di radicali liberi dell'ossigeno e altera la via di trasduzione del segnale (26) e riduzione della capacità antiossidante della glutazione reduttasi (19). Iperglicemia, eccesso di betaidrossibutirrico e di inibitori della somatomedina sono associati a difetti del tubo neurale. L'eccesso di acido arachidonico e mioinositolo, e l'accumulo di sorbitolo hanno un ruolo potenzialmente teratogeno (27).

La frequenza delle anomalie congenite in pazienti con HbA1C elevata (cutoff=8,5%) è del 22,4% vs 3,4% dei controlli (28). Il rischio di malformazioni sé è praticamente nullo con valori di HbA1C normali, pari al 14% per HbCA1c 7.1-9.1%; e aumenta progressivamente ai valori di HbA1C (23% con HbA1C 9.2-11.1%; 25% per HbA1C>11.2%) (29).

I più comuni difetti strutturali sono: malformazioni cardiache (O.R 1,18; 1,09-1,27), difetti del tubo neurale (O.R. 1,8; 95%), spina bifida (O.R 2,6;1,4-4,5), onfalocele (O.R. 3,3; 1,0-10,3) agenesia renale, anomalie scheletriche. L'aumentata incidenza di difetti del tubo neurale è stata messa in relazione con un deficit di acido folico. Le donne con BMI \geq 30 hanno un aumentato fabbisogno di acido folico, pari a circa 350 μ g/die **(30)**.

Di più raro riscontro il situs viscerum inversus **(10)** mentre non sembra esserci un aumentato rischio di anomalie cromosomiche **(19)** (Tabella 3).

Tabella 3. Rischio di malformazioni fetali (10)

ANOMALIA	RISK RATIO	RISCHIO %
Malformazioni cardiache	18 x	8.5
Malformazioni SNC	16 x	5.3
Anencefalia	13 x	
Spina bifida	20 x	
Anomalie congenite (Totali)	8 x	18.4

I difetti del sistema nervoso centrale (anencefalia, meningocele, oloprosencefalia) e le malformazioni cardiache sono circa i due terzi di tutte le anomalie congenite in nati da madre con IT-GDM. I figli di madre diabetica hanno un cuore di dimensioni allargate e un' ipertrofia del setto interventricolare (Asymmetric Septal Hypertrophy-ASH) che può evolvere in una vera stenosi subaortica ipertrofica.

All'ecografia cardiaca possiamo trovarci di fronte ad un miocardio ipercontrattile, ispessito, ed un setto ipertrofico e sproporzionato rispetto alle dimensioni delle pareti libere, con valvola mitrale spostata in avanti tanto da ridurre le dimensioni dei ventricoli e ostruire l'efflusso al ventricolo sinistro. Un altro possibile quadro è quello della cardiopatia congestizia, senza ipertrofia: il miocardio è iperdisteso e scarsamente contrattile. Quest'ultima è una condizione particolarmente benigna che regredisce correggendo ipoglicemia e policitemia neonatale (31-32).

Macrosomia è il termine comunemente utilizzato per indicare un feto con un peso alla

nascita superiore al 90° percentile o a 1.64 deviazioni standard (DS) di crescita per l'età gestazionale. L'incidenza della macrosomia in gravidanze complicate da diabete varia tra 15% e il 45% a seconda delle casistiche. La macrosomia nei nati da madre con diabete gestazionale è selettiva: colpisce il grasso sottocutaneo, il cuore e il fegato (organomegalia selettiva). Il rene e il cervello sono risparmiati, la circonferenza cranica è normale, ma c'è una netta sproporzione tra la circonferenza addominale e la circonferenza cranica **(33-34-35)**.

I dati dello studio Diabete in Early Pregnancy (DIEP) hanno evidenziato che il peso alla nascita è maggiormente correlato ai valori glicemici postprandiali nel secondo e terzo trimestre, rispetto alla glicemia a digiuno o ai valori medi di glicemia.

Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) dei figli di madre diabetica per contro è di tipo estrinseco ed è causato da un ridotto apporto di nutrienti secondario ad una vasculopatia diabetica avanzata. Pederson ha dimostrato una stretta correlazione tra IUGR durante il primo trimestre di gravidanza e diabete materno, specialmente se è presente anche vasculopatia (classe D-F della classificazione di White), come conseguenza di flussi patologici **(33)**.

Vi è un rischio aumentato di ricovero in TIN, in particolare per:

Distress respiratorio:

da deficit di surfattante caratterizzato da tachipnea (FR>60/min), tirage intercostale, diaframmatico o giugulare, alitamento nasale, gemito espiratorio, bassi livelli di saturazione periferica dell'ossigeno, ipossia, cianosi.

Sembra possa dipendere da un'interferenza tra elevati livelli insulinemici fetali e funzione del cortisolo, che in condizioni normali stimola la sintesi del fattore fibroblastico

responsabile della stimolazione della produzione di surfattante da parte degli pneumociti tipo 2.

L'iperinsulinemia interferisce con l'incorporazione della lecitina, anche quando il cortisolo è presente, ritarda la maturazione biochimica polmonare, inibendo la sintesi di surfattante indotta dal cortisolo (17), che in condizioni normali aumenta presso il termine di gravidanza per attivazione della via metabolica della adipalmitoil-lecitina, secondaria all'aumento dei livelli plasmatici di cortisolo.

Alla sindrome da distress respiratorio da deficit di surfattante si possono associare:

Tachipnea transitoria, in particolare se è stato effettuato un parto cesareo e/o

Iperensione polmonare persistente secondaria alla sindrome da iperviscosità.

Tale quadro può comportare dalla necessità di solo monitoraggio cardiorespiratorio e terapia posturale, alla intubazione e ventilazione meccanica, somministrazione di surfattante endotracheale e di elevate percentuali di O₂, anche in neonati a termine di gravidanza.

All'Rx torace si possono evidenziare addensamenti granulari o reticologranulari e broncogramma aereo.

Anomalie del metabolismo

Iperiscosità secondaria a policitemia: viene definita come ematocrito > 65%. A lungo termine, l'iperglicemia e l'iperinsulinemia cronica determinano un aumento del metabolismo basale e del consumo di ossigeno, portando ad uno stato di ipossia relativa. Il feto risponde incrementando la capacità di trasporto grazie alla sintesi di eritropoietina (EPO).

L'iperviscosità può comportare un aumentato rischio di enterocolite necrotizzante e trombosi della vena renale. La policitemia può richiedere quale trattamento dalla semplice idratazione all'exsanguinotrasfusione parziale.

Ipoglicemia (nel 40% dei casi): viene definita come glicemia < 40 mg/dl;

se sintomatica è caratterizzata da ipotonia, irritabilità, difficoltà di suzione, tremori, convulsioni. Necessita trattamento immediato e per e.v. indipendentemente dal valore di glicemia rilevato.

è per definizione transitoria, e secondaria alla cessazione degli apporti di nutrienti placentari che avviene alla nascita, in associazione alla condizione di iperglicemia cui è stato sottoposto il feto, e cui il neonato è ancora sottoposto alla nascita. Una possibile risposta metabolica fisiologica prevede il rilascio di corpi chetonici e l'utilizzo di questi quali substrati energetici. Tuttavia, se l'iperinsulinismo è stato cronico e protratto, questo meccanismo compensatorio può essere inibito ed il neonato va incontro ad un'ipoglicemia che può richiedere per la sua correzione dalla sola alimentazione precoce (se glicemia compresa tra 25 e 40 mg/dl) alla somministrazione di glucidi e.v. a 6-8 mg/kg/min (se glicemia < 25 mg/dl), da incrementare di 2 mg/kg/min ad ogni successiva rilevazione di persistenza di ipoglicemia. Dopo aver messo in atto il presidio terapeutico necessario i valori di glicemia andranno controllati ogni ora fino a determinazione di 2 controlli normali.

La mancata correzione degli eventi ipoglicemici è stata messa in relazione con esiti che a livello neuroradiologico possono essere evidenti soprattutto a livello delle aree occipitali dell'encefalo e che sul piano clinico possono dare luogo a deficit di vario grado (in particolare per quanto attiene alla memoria visiva) ed entità, a seconda della gravità e della

durata dell'ipoglicemia. La maggior incidenza di sequele neurologiche a lungo termine si osserva nei casi di ipoglicemia sintomatica, persistente o ricorrente **(10)**.

E' pertanto auspicabile che in tutti i centri nascita sia applicato un protocollo di prevenzione e management delle ipoglicemie neonatali.

Ipocalcemia: definita come calcemia < 7 mg/dl (Ca ionizzato $< 3,5$ mg/dl), si manifesta nel 22% dei casi ed in prevalenza tra le 24 e le 72 ore di vita; comporta tremori, ipertono e/o convulsioni si crede sia associata ad una riduzione nella sintesi di ormone paratiroideo (PTH) dopo la nascita. **(4)**. La causa sarebbe quindi un ipoparatiroidismo secondario (ad ipomagnesemia materna) funzionale transitorio dei primi 2-4 giorni di vita. In condizioni normali il PTH controlla la calcemia attraverso tre diversi meccanismi: mobilizzazione del calcio osseo, aumento dell'assorbimento del calcio dall'intestino e riassorbimento di calcio ad opera del rene. La Calcitonina invece riduce la calcemia, antagonizzando gli effetti del PTH. Durante la gravidanza il calcio passa dalla madre al feto. La concentrazione plasmatica di calcio sono maggiori nel feto, quindi l'iperparatiroidismo della madre è funzionale e serve per ripristinare il calcio materno deviato verso il feto dal momento che nè la calcitonina nè il PTH attraversano la placenta. Alla nascita si interrompe il trasferimento materno fetale di calcio, quindi può comparire ipocalcemia. Solo dopo la 24esima ora di vita le paratiroidi del neonato riprendono a funzionare autonomamente, cosa che accade in maniera inadeguata nel figlio di madre diabetica, e si ripristinano i valori compensatori di PTH e 1,25 diidrossi vitamina D **(36)**.

Per la sua correzione necessita della somministrazione di Calcio Gluconato al 10% in modo da garantire un apporto minimo di 40 mg/kg in infusione continua. La terapia in bolo va evitata poiché può dare bradicardia.

Anomalie dello stato marziale (nel 65% dei casi): in caso di policitemia (10%) i depositi di ferro presenti a livello cerebrale vengono depleti e immessi in circolo in modo da dare supporto all'espansione del volume ematico, comportando così però possibili conseguenze funzionali a lungo termine con esiti negativi sullo sviluppo neuropsichico.

Iperbilirubinemia: si manifesta in particolare in associazione con la policitemia. L'aumentata massa eritrocitaria comporta un'aumentata emocateresi che a sua volta determina un incremento della sintesi di bilirubina. Inoltre, il latte di madri diabetiche sembra contenga β - glucuronidasi (enzima che favorisce il ricircolo enteroepatico della bilirubina) in quantità tre volte maggiore rispetto al latte delle madri sane (37).

Asfissia intrapartum

Le complicazioni appaiono più frequenti se il controllo glicemico in gravidanza è insufficiente. In particolare, le malformazioni congenite sono tanto più frequenti quanto più scarso è stato il controllo glicemico nel primo trimestre di gestazione, in fase di embriogenesi. Al contrario le complicanze metaboliche e respiratorie sono correlate all'iperglicemia nell'ultima fase di gravidanza.

Lo stress perinatale (ad esempio parto operativo con travaglio protratto) può avere un effetto additivo su alcune complicanze ed in particolare sull'ipoglicemia, a causa del rilascio di catecolamine e della deplezione dei depositi di glicogeno.

Effetti sullo sviluppo neuropsichico

Indipendentemente dal più prevedibile e immediato effetto che può essere determinato da prolungati e ripetuti episodi di ipoglicemia non adeguatamente trattati sullo sviluppo neurologico del neonato **(38)**, diversi studi hanno messo in evidenza una relazione inversamente proporzionale tra indici metabolici materni di scarso compenso (quali glucosio, beta-idrossibutirrato e acidi grassi liberi plasmatici) e livello di sviluppo neurocomportamentale nei nati da madri diabetiche **(15-29-39)**

- Nel 2005, DeBoer et al hanno dimostrato la presenza di deficit nei pattern di memoria a 1 anno, suggerendo la presenza di una connessione tra l'ambiente prenatale e lo sviluppo della memoria.

Il deficit di Fe potrebbe avere un ruolo nel determinismo di questo fenomeno.

- Nel 1991, Rizzo et al hanno studiato a 2,3,4 e 5 anni i figli di 223 madri di cui 89 affette da diabete pregravidico, 99 affette da GDM e 35 con normale tolleranza glucidica. E' risultato:
 - Mental developmental index (MDI) a 2 anni inversamente correlato ai livelli materni di beta-idrossibutirrato nel III trimestre, dopo correzione per stato socioeconomico, scolarità ed etnia.
 - Scores secondo Stanford-Binet per il QI a 3, 4, e 5 anni inversamente correlati con livelli materni di beta-idrossibutirrato e FA nel III trimestre.
 - Nessuna correlazione tra complicanze perinatali e sviluppo cognitivo.
 - Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised (WISC-R) per la performance verbale e per il QI complessivo inversamente correlati con il metabolismo

lipidico e glucidico nel II e III trimestre.

- Ornoy et al. Hanno seguito 32 bambini in età scolare la cui madre era stata affetta da GDM con buon controllo glicemico e li hanno confrontati con 57 controlli. Deficit neurologici minori a lungo termine sono risultati più frequenti nei nati da madri con GDM; questa differenza tendeva a scomparire con la crescita.

VALUTAZIONE NUTRIZIONALE DEL FIGLIO DI MADRE DIABETICA

Lo stato nutrizionale può essere definito come l'interpretazione delle informazioni derivanti dall'analisi del regime dietetico, degli esami di laboratorio e della valutazione antropometrica (40). La valutazione completa dello stato nutrizionale ha lo scopo di individuare le conseguenze metaboliche di uno stato non fisiologico come il digiuno o l'eccessiva nutrizione, cui si associa lo sviluppo di malnutrizione. L'analisi della composizione corporea, che è lo studio qualitativo e quantitativo dei vari compartimenti che costituiscono l'organismo umano, è un buon indice dello stato nutrizionale ed è particolarmente utile in età pediatrica (10).

Lo stato nutrizionale del lattante può essere studiato mediante l'esame obiettivo, l'anamnesi nutrizionale, i parametri antropometrici, gli indicatori della massa muscolare magra e le proteine viscerali.

Inizialmente si procede alla raccolta dei **dati anamnestici**. E' importante conoscere l'anamnesi familiare del paziente raccogliendo i dati antropometrici dei genitori e la storia clinica del paziente (la gravidanza), per riconoscere i fattori di rischio a cui il bambino è esposto per individuare deficit nutritivi prima che si evidenzino i segni e i sintomi della malnutrizione (41) o dell'ipernutrizione. Successivamente si esegue l'esame obiettivo con il rilevamento dei **dati antropometrici** lunghezza, peso, circonferenza cranica, circonferenza addominale (WHO 2005). I dati antropometrici sono di rapido ottenimento, ma necessitano di precisione e di metodi di raccolta standardizzati. La loro espressione più corretta sul piano statistico è sottoforma di unità di deviazione standard dalla media per l'età del soggetto, denominata z -score (41).

Il peso alla nascita è il dato più importante, secondo solamente al sesso del neonato, con valore predittivo dell'accrescimento del bambino e sulle sue condizioni di salute **(42)**. Il peso alla nascita è il risultato delle esperienze fetali in utero, ma non ci fornisce indicazioni sulla composizione corporea. Il percentile di appartenenza non rappresenta in assoluto un indice nutrizionale, ma serve a collocare l'individuo esaminato all'interno di una determinata popolazione standard nell'ambito della medesima fascia di età. La variazione del percentile di appartenenza nel tempo costituisce un ulteriore parametro per la valutazione dell'efficacia della terapia nutrizionale.

Il rilevamento dello spessore dello strato adiposo sottocutaneo (**plicometria**) è in grado di fornire dati utili sul trofismo tissutale e sui rapporti tra massa grassa e massa magra. A tale scopo è importante la valutazione dello spessore della plica cutanea tricipitale.

Anche l'indice peso per lunghezza (Kg/m^3) è utilizzato come indice di composizione corporea e un basso indice ponderale è segno di una scarsa massa muscolare. Studi sulla popolazione europea hanno evidenziato una associazione diretta tra indice ponderale alla nascita e diabete. Una scarsa massa muscolare è necessariamente associata ad adiposità **(41)**.

Sul piano biochimico e strumentale, gli accertamenti utili per la valutazione dello stato nutrizionale e delle eventuali complicanze a breve e a lungo termine del figlio di madre diabetica possono essere così suddivisi:

I livello (indispensabile screening delle complicanze a breve termine):

Glicemia: monitoraggio precoce dopo la nascita

Esame emocromocitometrico

Calcemia

Bilirubinemia

Emogasanalisi

Un pattern biochimico di I livello così strutturato può essere efficacemente effettuato anche solo con un prelievo capillare da tallone, e mediante la sua analisi con apparecchiatura ABL.

Accertamenti di II livello (approfondimento diagnostico in caso di riscontro di complicanze a breve termine):

magnesemia in caso di ipocalcemia asintomatica/sintomatica;

dosaggio dell'emoglobina glicata (**HbA1C**) materna in caso di sindrome complicata e/o di controllo glicemico non noto (si stima che livelli superiori a 8,5 % corrispondano ad una frequenza di complicanze feto-neonatali pari al 22%);

la **radiografia del torace** in presenza di un distress respiratorio può essere utile per dirimere tra un quadro di deficit di surfattante e una tachipnea transitoria;

è sempre consigliabile eseguire una **valutazione cardiologica** con ultrasonografia in caso di diabete insulinodipendente oppure di diabete in dietoterapia con compenso glicemico scarso o non noto;

il sospetto di frattura clavare può essere indagato mediante rx o preferibilmente

ecografia della clavicola interessata;

in caso di sospetta paralisi del plesso brachiale o di displasia caudale andranno effettuate indagini più approfondite, a partire dalla **valutazione fisiatrica**;

un quadro di distensione addominale, alvo chiuso, vomito, può richiedere un rx addome con mezzo di contrasto.

Indagini di III livello: (valutazione approfondita delle possibili complicanze a lungo termine; valore ad oggi speculativo):

alcune malformazioni sono state messe in relazione con ridotti livelli di **acido arachidonico** e di **mioinositolo**, e per contro con elevati livelli di **sorbitolo** nel feto (27). Alcuni Autori hanno inoltre ipotizzato un possibile ruolo dei radicali liberi dell'ossigeno e degli idroperossidi nei mitocondri di tessuti fetali suscettibili poiché questi inibitori delle prostacicline potrebbero causare anomalie nella vascolarizzazione dei tessuti in fase di sviluppo.

Valutazione dello stato nutrizionale, e sua possibile relazione con la comparsa di complicanze a lungo termine:

L'azotemia (v.n. 25-65 mg/dlmg/dl) comprende sia la quota di **azoto uremico** (BUN) che non uremico, costituisce un'importante indice nutrizionale: essa diminuisce in caso di emodiluizione, ridotto apporto proteico, malassorbimento, insufficienza epatica, mentre aumenta in caso di insufficienza renale e aumentato catabolismo proteico (10). Può essere utilizzata per stimare la velocità del catabolismo proteico e valutare se l'apporto alimentare di proteine è adeguato a controbilanciarlo (43).

Le proteine sieriche totali, albumina e transferrina sono strettamente collegate ai dati antropometrici, al contrario della prealbumina e della Retinol Binding Protein (RBP) che hanno un'emivita breve e una maggior correlazione con la depressione dello stato nutrizionale (44). La misurazione delle proteine plasmatiche riflette il passaggio dal catabolismo all'anabolismo (45). Queste proteine hanno velocità di sintesi differente quindi alcuni parametri seguono le variazioni dello stato nutrizionale più rapidamente di altre. Inoltre, le concentrazioni delle proteine sono influenzate dalla velocità di sintesi e di catabolismo, dal terzo spazio, e in alcuni casi da perdite esterne: non riflettono perciò in maniera sufficientemente sensibile l'assunzione proteica (43).

L'elettroforesi siero-proteica permette di indagare il livello dell'albumina, la proteina a lento turnover maggiormente rappresentata nel siero umano che presiede a funzioni fondamentali quali la pressione osmotica. La sua concentrazione nel neonato è 3,6-5,4 g/dl, rappresenta la percentuale del peso corporeo. La velocità di sintesi dell'**albumina** (v.n. 14-15 giorni) è strettamente dipendente dallo stato nutrizionale, in particolare dalla disponibilità di aminoacidi. La sua concentrazione varia molto lentamente e non è in grado di riflettere variazioni acute dello stato nutrizionale. Eventuali variazioni possono derivare da condizioni come la disidratazione, lo stress e la malnutrizione. È un buon marker di carenza cronica di proteine.

La **transferrina** (v.n. 230-360 mg/dl) è una proteina che migra nella regione delle β -globuline. Importante per il trasporto del ferro nel plasma verso i vari organi di deposito, soprattutto muscoli e midollo osseo è sintetizzata dal fegato, ma la sua sintesi è regolata dalle scorte di ferro ha un'emivita di 8 giorni; questo fa sì che rifletta meglio dell'albumina la variazione degli apporti nutrizionali (45).

Con la misura della **pre-albumina** (v.n.) si indaga sulle proteine a breve turnover e

quindi sul ricambio proteico immediato (un livello molto basso di prealbumina potrebbe essere un segno precoce di malnutrizione proteico-energetica). La prealbumina ha un'emivita di 1,9 giorni (46). La concentrazione non sembra essere influenzata in modo significativo da variazioni dello stato di idratazione e le malattie epatiche non condizionano i livelli di prealbumina come per gli altri marcatori proteici del plasma. La concentrazione di prealbumina aumenta quando il paziente è in stato anabolico e il bilancio azotato è in positivo (45). È un marcatore accurato ed economico dello stato nutrizionale anche nella popolazione pediatrica e neonatale (47).

Un altro importante parametro di laboratorio utilizzato per monitorare le variazioni a breve termine dello stato nutrizionale è la **Retinol Binding Protein (RBP)**, adipokina di recente scoperta. È una proteina chiave nel metabolismo dei retinoidi (vitamina A e derivati) e l'unico carrier del Retinolo nel sangue, con funzione di mobilizzare i depositi epatici di vitamina A e distribuirla ai tessuti periferici, soprattutto in caso di insufficiente apporto dietetico. La sua utilità si basa sull'emivita di 12 ore e sul suo limitato pool corporeo. La RBP risponde prontamente alla deprivazione energetica e proteica. Le concentrazioni di RBP e prealbumina aumentano mentre quelle di albumina e transferrina non cambiano affatto.

È sintetizzata prevalentemente dagli epatociti, in parte anche da occhi, cervello e tessuto adiposo, perciò definita adipokina (48), e durante la vita fetale anche dal sacco vitellino (49). La concentrazione sierica della TTR è minima nel feto, si innalza lentamente fino ad un massimo intorno ai 50 anni, dopodiché decresce lentamente.

RBP può essere utilizzata come misura indiretta del retinolo e non sembra essere interessata dalla risposta di fase acuta, infatti è una proteina negativa di fase acuta, dettaglio importante se si considera che nei soggetti obesi gli indici di infiammazione

(Proteina C-Reattiva –PCR, IL-6, Leptina) sono spesso aumentati **(50)**. La relazione tra retinolo e RBP può essere tuttavia alterata in alcune situazioni particolari come la gravidanza, l'immediato pre-partum e condizioni stressanti. Prealbumina e RBP sono dei validi indici di malnutrizione proteico-calorica nel neonato. Helms ha riscontrato che i valori di queste proteine si modificano ancora prima del peso e degli indici antropometrici **(51)**. I livelli plasmatici di RBP non sono correlati alla sensibilità insulinica, ma direttamente associati ai parametri antropometrici (peso, altezza, massa grassa). La RBP è stata recentemente studiata con attenzione per il suo potenziale ruolo nella regolazione della sensibilità insulinica, come elemento di connessione tra obesità e insulino-resistenza **(52)**.

I primi lavori sono stati condotti da Yang e Graham su modelli animali di topo con ridotta espressione di GLUT 4 nel tessuto adiposo (Adip GLUT4^{-/-} mice). Il Glucose Transporter 4 (GLUT) è la tappa limitante dell'uptake del glucosio all'interno dei tessuti, che permette il trasporto del glucosio dal plasma alle cellule muscolari e agli adipociti, e la sua espressione è controllata dall'insulina **(50)**. La principale causa di Diabete tipo 2 è la scarsa azione dell'insulina sul tessuto adiposo che si sviluppa quando l'espressione di GLUT 4 è down regolata nel tessuto adiposo, ma non nel muscolo. Alla luce di questi nuovi dati la RBP 4 può essere considerata l'elemento chiave per spiegare come la down regolazione di GLUT 4 negli adipociti conduca all'insulino-resistenza **(52)**. A riprova di quanto affermato, Wolf ha somministrato a topi knockout per GLUT 4 ^{-/-} Rosiglitazone (attivatore del PPAR gamma) e ha ottenuto completa normalizzazione dei valori sierici di RBP4 con miglioramento della tolleranza glucidica **(53)**.

L'analisi del **profilo lipidico** è utile per stimare la massa grassa del neonate (FM). È un

parametro molto importante da valutare in tutti i pazienti con alto rischio cardiovascolare, obesi oppure malnutriti. I depositi di trigliceridi si formano nel corso del terzo trimestre di gravidanza, pertanto i bambini fortemente prematuri hanno scorte di grassi molto limitate. In un nato dopo la 28 settimana di gravidanza il grasso corrisponde circa al 2 % del grasso corporeo. In un bambino a termine i grassi sono circa il 13% del peso corporeo. La proporzione continua ad aumentare fino a 6 mesi raggiungendo il 25 %. A questa età i bambini cominciano a muoversi, a mangiare cibi solidi pertanto la percentuale di grassi decresce. La colesterolemia totale (45-182 mg/dl) e frazionata (HDL, LDL, Lp-a), la misura dei NEFA e dei trigliceridi plasmatici (32-99 mg/dl) danno un'immagine del metabolismo lipidico. I livelli di trigliceridi nel plasma forniscono, invece indicazioni del metabolismo dei grassi, ma sono influenzati da numerosi processi metabolici. Gli acidi grassi sono considerati marker di malnutrizione a lungo termine perché rispondono a condizioni di malnutrizione in termine di mesi. La prevalenza di una specie di acidi grassi rispetto a un'altra, sia nel sangue sia nella componente lipidica delle membrane cellulari è fortemente influenzata dalle abitudini alimentari.

Il profilo degli acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LC-PUFA) è uno strumento molto utile per valutare eventuali deficit o squilibri a livello degli acidi grassi. Sono suddivisi in due classi, ω -3 e ω -6, a seconda della posizione del loro doppio legame nella posizione metilica della molecola (54). Gli acidi grassi capostipite dei due gruppi sono l'acido α -linolenico (18:3 ω 3) o LNA e l'acido linoleico (18:2 ω 6) o LA; ambedue sono di origine vegetale. I microsomi epatici e cerebrali posseggono la capacità di allungare e desaturare ulteriormente gli acidi grassi essenziali forniti con la dieta (vegetali a foglia verde, legumi, frutta secca, noci, olio di semi di lino e di soia) convertendo l'acido α -linolenico 18:3 ω 6 in acido eicosapentenoico 20:5 ω 3 (EPA) e in decosaesaenoico 22:5 ω 3 (DHA) e l'acido

linoleico 18:2 ω 6 in acido arachidonico 20:4 ω 6 **(55)**. Gli Acidi grassi ω -3 e ω -6 sono componenti fondamentali delle membrane cellulari e delle molecole lipidiche plasmatiche; inoltre da essi derivano Prostaglandine, Trombossani e Leucotrieni, attraverso reazioni catalizzate dagli enzimi ciclossigenasi e lipossigenasi.

Gli effetti biologici degli acidi grassi della serie ω 6 e della serie ω 3, pur avendo come siti della loro azione gli stessi elementi cellulari (mastociti, neutrofili, eosinofili, macrofagi, trombociti, endotelio vasale) sono spesso di tipo opposto.

Il DHA ha prevalentemente una **funzione strutturale**; è ben rappresentato tra i fosfolipidi dei sinaptosomi cerebrali, nella retina e nei fosfolipidi dei canali intramembrana del sodio; ha un ruolo importante nello sviluppo cerebrale e del tessuto retinico. EPA, al contrario, è il principale precursore delle prostaglandine della serie 3, le quali posseggono una importante attività antiaggregante piastrinica **(56)**

Gli acidi grassi polinsaturi omega-3 modificano il metabolismo lipidico e possono modulare l'accrescimento ponderale. Eccessi di acidi grassi saturi (come l'acido palmitico) o transinsaturi favoriscono l'aumento del colesterolo LDL ed elevati livelli di colesterolo sono markers di outcome neonatale sfavorevole **(41)**.

I PUFA penetrano nel nucleo cellulare e modulano l'espressione genica. EPA e DHA promuovono infatti l'espressione di geni mediati dall'attivazione della trascrizione del PPAR γ e hanno effetto anti proliferativo e anti-differenziativo sugli adipociti **(56)**.

SCOPO DELLO STUDIO

Con il presente studio si intende valutare se in una popolazione di figli di madre diabetica sia riscontrabile un pattern di crescita anomalo, ed in particolare un elevato incremento ponderale già nel corso del primo anno di vita, e se sia possibile riscontrare un'associazione tra precoce accelerazione di crescita e/o di deposizione di massa grassa e markers biochimici dello stato metabolico-nutrizionale rilevati in epoca neonatale.

In ultima analisi ci si propone quindi di identificare precocemente i neonati che possano necessitare di un monitoraggio nutrizionale, prima che le condizioni stesse di accelerazione della crescita li predispongano a sfavorevoli outcomes metabolici nelle età successive.

Quale obiettivo secondario ci si propone di riconoscere i gruppi etnici a rischio maggiore di complicanze metaboliche in gravidanza e di squilibri nutrizionali nelle epoche post-natali.

PAZIENTI E METODI

Al presente studio prospettico hanno preso parte i nati presso l’Ospedale Filippo Del Ponte Ospedale Di Circolo, Fondazione Macchi, Varese, da madre affetta da Diabete Gestazionale (GDM) in terapia dietetica o insulinica nel periodo compreso tra Aprile 2008 e Ottobre 2009. Sono stati esclusi dallo studio neonati prematuri, con malformazioni maggiori o affetti da altre patologie non sicuramente riconducibili alla patologia materna in questione, compresa l’encefalopatia ipossico-ischemica, i nati da gravidanza gemellare e/o insorta da tecniche di fecondazione assistita, i nati da madre tossicodipendente o con altra patologia della gravidanza.

Ai fini di una corretta valutazione dello stato nutrizionale e non intendendo introdurre un numero eccessivo di variabili, sono stati inoltre esclusi i neonati affetti da IUGR.

Le famiglie dei neonati in grado di soddisfare i criteri di selezione hanno ricevuto una lettera di presentazione dello studio, e la loro partecipazione è stata subordinata alla sottoscrizione di un consenso informato.

Alla nascita, previo ottenimento del consenso informato da parte di almeno un genitore, a ciascun bambino è stato assegnato un codice in numero progressivo in modo che i dati di ciascun paziente fossero registrati in maniera anonima.

Per ciascun paziente sono stati i raccolti dati relativi a:

Anamnesi familiare:

- nazionalità, specificando il/i paesi di provenienza
- dati antropometrici dei genitori nel periodo precedente la gravidanza: peso, altezza e calcolo del BMI

Gestazione:

- ordine di parità,
- incremento ponderale,
- sierologia materna (per HBV, HCV, HIV, Toxoplasma, Rosolia, Lue ed ev. CMV)
- positività o negatività del tampone vagino-rettale per streptococco beta-emolitico di gruppo B (SGB),
- eventuale altro rischio infettivo (ad es. urinocoltura positiva per SGB o precedente figlio con sepsi neonatale)
- fumo (numero di sigarette/die)
- terapia effettuata: dietetica o insulinica; sono state considerate in

terapia insulinica anche le gestanti il cui trattamento è stato inizialmente dietetico e successivamente (per scarso compenso) ormonale.

- eventuali altri farmaci assunti,
- tipo di controllo glicemico, basato sull'esito del monitoraggio glicemico post-terapeutico prescritto dall'ostetrico,
- valore dell'emoglobina glicata, ove disponibile

Parto:

- Tipo: eutocico, cesareo elettivo (ad es. per presentazione podalica), cesareo urgente (ad es. per alterazioni cardiocografiche oppure per mancata progressione), distocico per applicazione di ventosa ostetrica, o indotto con Ossitocina;
- settimane di gestazione e definizione di prematurità per EG < 37 settimane;
- punteggio di Apgar al 1° e al 5° minuto (più eventuale determinazione del punteggio al 10° minuto in caso di Apgar < 7 a 5');

Morbilità neonatale:

- Distress respiratorio:
 - Tachipnea transitoria
 - Malattia delle membrane ialine
 - Sindrome da aspirazione di meconio
- Ipoglicemia: specificandone il grado (lieve moderata o grave) e la sua transitorietà ovvero persistenza in seguito all'applicazione del protocollo terapeutico
- Ipocalcemia: specificandone il grado (lieve moderata o grave) e la sua transitorietà ovvero persistenza in seguito all'applicazione del protocollo terapeutico
- Ittero: specificando la eventuale presenza di incompatibilità di gruppo sanguigno materno-fetale

Dati antropometrici del neonato: peso, lunghezza, circonferenza cranica.

In prima giornata ciascun bambino è stato sottoposto monitoraggio glicemico, eseguito routinariamente nella pratica clinica nel neonato a rischio di ipoglicemia mediante dosaggio della glicemia capillare con metodo elettrochimico (Accu Check Aviva meter System-Roche Diagnostics) a 2, 4 e 6 ore dalla nascita.

In occasione del prelievo per screening neonatali (test di Guthrie), in aggiunta ai parametri che di prassi vengono valutati nella pratica clinica nei nati da madre diabetica in presenza di sintomi e/o fattori di rischio sono stati inoltre valutati:

- Equilibrio acido-base con determinazione di: pH, elettroliti (Na, K, Ca⁺⁺, Cl⁻) in mEq/l, glicemia (mg/dl), Hb (g/dl), Ht (%), bilirubina totale (mg/dl),
- Azotemia sierica (mg/dl),
- Colesterolo totale sierico (mg/dl),
- Trigliceridi totali sierici (mg/dl),
- Insulina basale (uUI/ml),
- Retinol Binding Protein (g/l),
- acidi grassi in % del peso totale, con particolare attenzione per DHA ed EPA.
- Il dosaggio di: Insulina, BUN, trigliceridi e colesterolo sierici è stato effettuato presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale F. del Ponte.
- Il dosaggio della Retinol Binding Protein è stato effettuato su siero, ottenuto da centrifugazione di sague intero e conservato a -20°C, mediante metodo immunonefelometrico (Dade Behring Nefelometer II-Newark,DE), presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale San Paolo, Università di Milano. I valori di riferimento pediatrici sono 0.030-0.060 g/l, quelli del neonato a termine 0.013 e 0.046 g/l e del neonato pretermine 0.013 e 0.016 g/l (57).

- Gli acidi grassi sono stati dosati presso l'Istituto di Farmacologia dell'Università di Milano con metodo gas-cromatografico su gocce di sangue intero adsorbite su carta bibula e sottoposte a transmetilazione per analisi. I valori sono espressi come percentuale relativa degli acidi grassi totali.

Durante il primo mese di vita ogni bambino ha eseguito anche un'ecografia cardiaca per la valutazione della morfologia cardiaca ed in particolare per la misurazione dello spessore delle pareti e del setto interventricolare.

Tutti i pazienti reclutati nello studio sono stati sottoposti presso l'ambulatorio di Neonatologia dell'Ospedale Filippo del Ponte di Varese ad un follow-up auxologico della durata di un anno. Durante le visite effettuate a 1m±2gg, 3m±7gg, 6m±7gg, 12 mesi±7gg sono stati raccolti i principali dati antropometrici (peso, lunghezza, circonferenza cranica).

Sulla base dei suddetti dati raccolti è stato calcolato lo z-score del peso per l'età, della lunghezza per l'età e del peso per la lunghezza (Secondo curve di crescita OMS 2005).

Inoltre, a partire dal terzo mese di vita sono state misurate la plica tricipitale e la circonferenza addominale.

La misurazione della plica tricipitale è stata effettuata con un calibro di Holtain.

Lunghezza, circonferenza cranica e addominale sono state misurate con nastro centimetrato flessibile, non deformabile. Il peso è stato valutato su bilancia a piatto

meccanica. Il calcolo dello z- score di Altman, definito come differenza in deviazioni standard del soggetto esaminato con il dato di riferimento per i soggetti di pari età, è stato effettuato mediante il software OMS Anthro 2005 per i nati a termine; per i nati pretermine è stato calcolato mediante la formula :

$$\frac{\text{valore attuale} - \text{valore di riferimento (corrispondente al 50° \%ile per l'età)}}{\text{deviazione standard per l'età}}$$

Per ciascun bambino è stata valutata la velocità di crescita in peso e lunghezza ad ogni scadenza dei controlli di follow-up rispetto al parametro antropometrico alla nascita; ad esempio: (peso a 6 mesi- peso alla nascita)/peso alla nascita.

Ad ogni visita sono stati raccolti dati anamnestici sullo stato di salute del piccolo nei mesi precedenti, in modo da poter valutare l'eventuale necessità di esclusione dallo studio in caso di insorgenza di patologie maggiori che potessero inficiare la crescita.

ANALISI STATISTICA

I dati descrittivi sono espressi come media, mediana, deviazione standard (DS), minimo, massimo, o come numero di casi e percentuale. Le associazioni tra variabili discrete sono state analizzate tramite il test Chi quadrato ed il test esatto di Fisher.

L'associazione tra variabili continue è stata dimostrata mediante i test non parametrici di Mann-Whitney e di Pearson.

Il confronto dei parametri auxologici tra gruppi è stato effettuato mediante Analisi della varianza per misure ripetute (ANOVA).

I valori di $p < 0.05$ sono stati considerati significativi sul piano statistico (test a due code).

Le elaborazioni sono state ottenute mediante il software SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill., USA)

RISULTATI

L'87% dei bambini inizialmente reclutati hanno portato a termine il follow-up.

I dati descrittivi del campione che ha completato il follow-up sono riportati nella seguente tabella.

Variabili	n	%	Media (\pm DS)	Mediana
Genere				
Maschi	31	55		
Femmine	25	45		
Tipo di diabete				
IT-GDM	32	57		
NIT-GDM	24	43		
Età Gestazionale			37.2 (\pm 2.3)	38
Pretermine	16	30	34 (\pm 1.5)	
A termine	40	70	38	
Nazionalità				
Italiani	44	79		
Stranieri	12	21		
Parametri antropometrici dei genitori				
BMI genitori			26	25
Madre			27.3 (\pm 7)	25
Padre			25 (\pm 3)	25
Incremento peso madre			10.7 (\pm 5)	10.5
Sovrapp madre	23	42		
Obesità madre	15	27.5		
Tipo di parto				
Eutocico	28	50		
Distocico	28	50		
Peso nasc. (g)			3088 (\pm 630)	3150
z- peso nascita			0.25	0.16
Macrosomia	5	9		

Tabella 1. analisi descrittiva del campione

Il soggetti che non hanno terminato il follow-up erano simili per caratteristiche e

suddivisione per gruppi rispetto ai soggetti analizzati.

Ulteriori approfondimenti sul piano descrittivo:

La nazionalità più rappresentata è quella italiana (46/56, pari al 80%); 10/56 pazienti hanno entrambi (17.8%) o almeno uno (3.5%) dei genitori di nazionalità straniera.

I genitori di origine straniera sono di provenienza centroafricana (n=4, pari al 7% del totale e al 33% degli stranieri), nordafricana (n=2 pari al 3.5% del totale e al 16.6% degli stranieri), asiatica (n=3, pari al 5.3% del totale e al 25% degli stranieri) e sudamericana (n=2, pari al 3.8% del totale e all'8.3% degli stranieri).

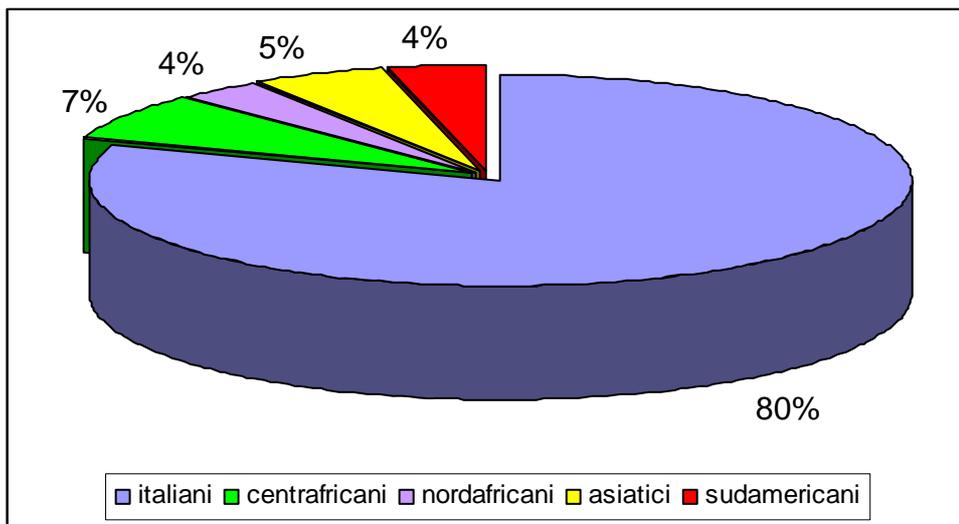


Grafico 1. Suddivisione del campione in base alla nazionalità dei genitori.

Il compenso metabolico in gravidanza è stato soddisfacente nel 65% dei casi,

insufficiente nel 25% e non noto nel restante 10%.

Non è risultata una maggiore frequenza di compenso metabolico inadeguato in gravidanza, altra morbidità gravidica, distocia di parto o nascita pretermine tra i figli di genitori stranieri rispetto ai figli di genitori italiani.

Anche per quanto concerne la morbidità neonatale ed i parametri di crescita non sono riscontrabili differenze significative sulla base dell'origine dei genitori.

Solo una delle madri del campione ha fumato in gravidanza, e nessuna delle madri ha fatto uso di alcool o di sostanze psicotrope.

Le gravidanze sono caratterizzate da un rischio infettivo dovuto a positività di urinocoltura o di tampone vagino-rettale per streptococco beta-emolitico di gruppo B (SGB), oppure per rottura prematura delle membrane (PROM = rottura delle membrane più di 18 ore prima del parto) oppure secondario a febbre materna in travaglio nel 21% dei casi. In un solo caso la madre è risultata positiva per Epatite B. In nessun caso di rischio infettivo il neonato ha contratto un'infezione materno-fetale.

Il parto è stato eutocico nella metà dei casi, distocico nell'altra metà ed in particolare: cesareo elettivo (TCE) nel 26.8%, cesareo urgente (TCU) nel 16% (per alterazioni cardiocografiche [CTG] o per mancata induzione o progressione), da parto operativo per applicazione di ventosa ostetrica nel 5.3% e da parto indotto con Ossitocina nel 1.8% dei casi.

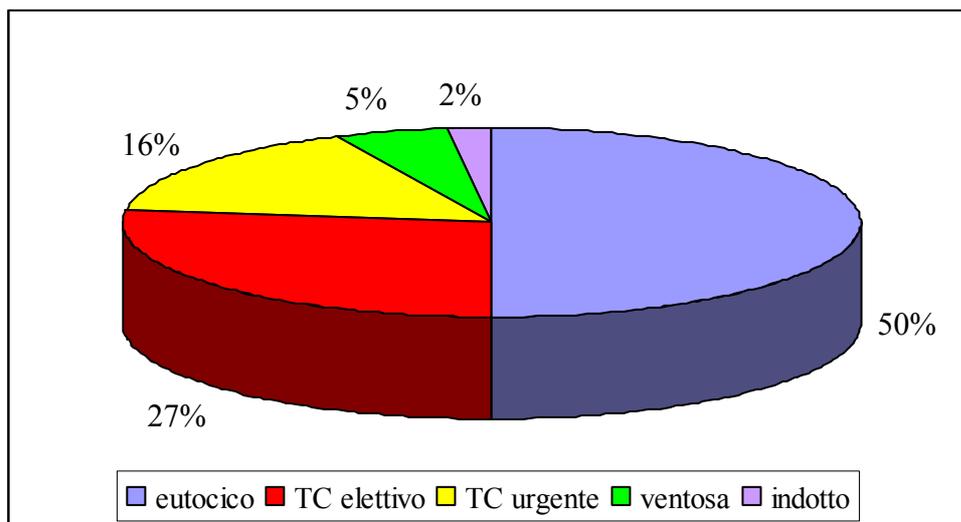


Grafico 2. Suddivisione del campione in base al tipo di parto effettuato.

I neonati hanno presentato un normale adattamento extrauterino, con punteggio di Apgar superiore a 7 ad un minuto di vita nel 90% dei casi, e superiore a 7 a 5 minuti di vita nel 98.2% dei casi. In un caso il punteggio di Apgar è stato 3 a 1 minuto, 6 a 5 minuti e 8 a 10 minuti; gli accertamenti eseguiti per sofferenza perinatale hanno dato esito negativo.

Dati antropometrici

I parametri alla nascita di peso medio e z-score sono rispettivamente 3283 g (± 460) e 0.00 per i nati a termine, 2639 g (+755) e 0.86 per i pretermine.

Il 9% dei neonati è risultato essere macrosoma (definito come peso > 1.64 z-score oppure $> 90^{\circ}$ percentile); il 44% dei nati macrosoma hanno un peso $> 96^{\circ}$ percentile, > 2 z-scores.

E' evidenziabile una tendenza alla correlazione tra peso alla nascita e incremento di peso in gravidanza (p=0.07; test di Pearson)

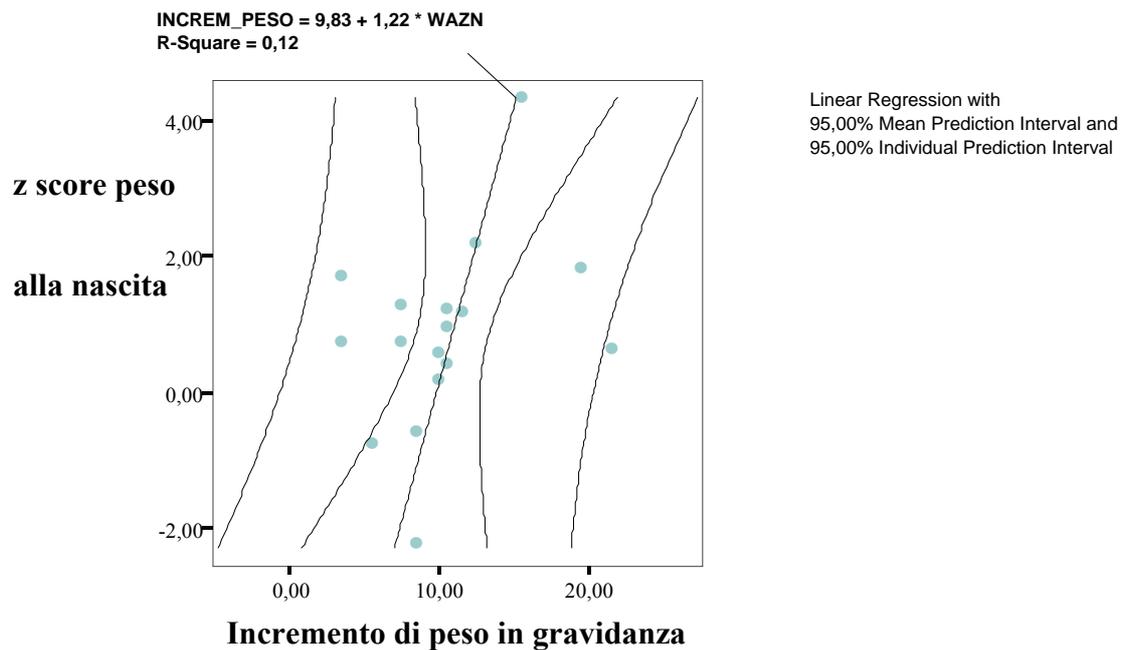


Grafico 3. Regressione Lineare tra peso alla nascita e incremento ponderale materno in gravidanza

La crescita fetale nel campione sembra essere indipendente dalla condizione di sovrappeso o di obesità materna e dal tipo di compenso metabolico ottenuto in gravidanza.

Ad uno, tre, sei e dodici mesi di età i parametri antropometrici dei pazienti reclutati sono risultati essere nei limiti di norma per l'età.

Nel confronto tra i 4 gruppi (nati a termine da madre affetta da IT-GDM, nati a termine da madre con NIT-GDM, nati pretermine da madre con IT-GDM, nati pretermine da madre con NIT-GDM) non sono state riscontrate differenze significative in termini di score del peso alle varie tappe del follow-up, come si evince dal grafico 4 (range di normalità tra 2.0 e -2.0).

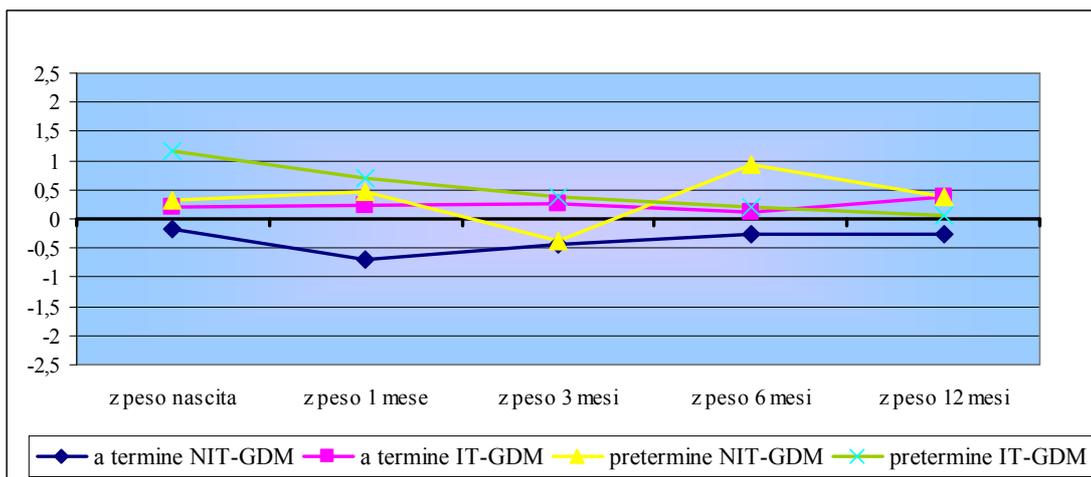


Grafico 4. Variazione del peso nel corso del primo anno di vita nei diversi sottogruppi.

A 1 e 3 mesi i figli di madre insulinodipendente mantengono valori di z-score del peso significativamente più elevati ($p=0.027$ e 0.023) vs i figli di madre non insulinodipendente; tale differenza si perde a 6 e 12 mesi (vedi grafico 5; valori di normalità compresi tra -2.0 e 2.0).

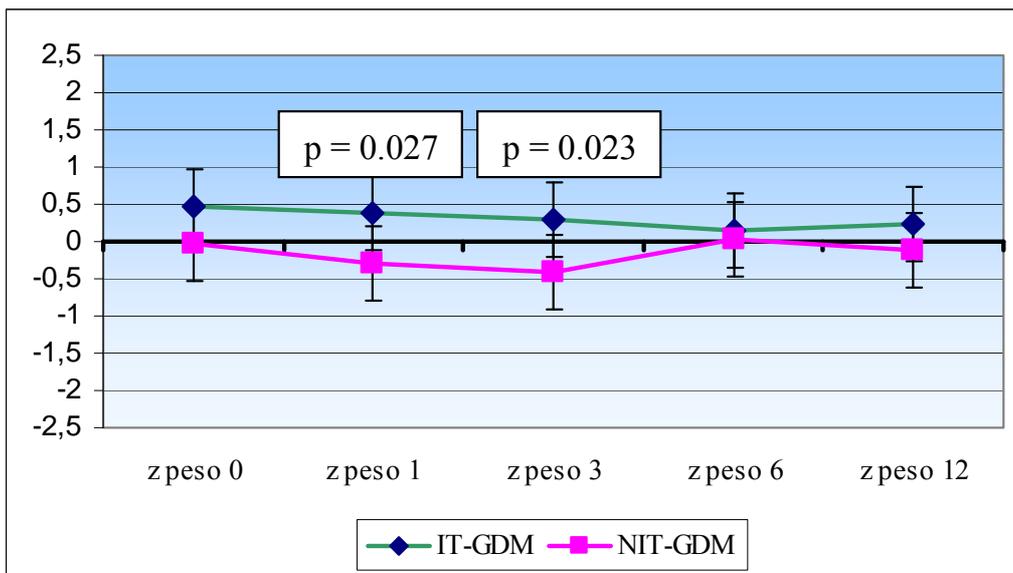


Grafico 5. Differenza di peso (z-score) tra IT-GDM e NIT-GDM.

Le velocità di crescita sono risultate le seguenti:

- a 1 mese 27% per peso ed 8% per la lunghezza,
- a 3 mesi 87% per peso e 23% per la lunghezza,
- a 6 mesi 150% per peso e 36% per la lunghezza,
- a 12 mesi 225% per il peso e 55% per la lunghezza.

Tale pattern di crescita appare assolutamente in linea con quanto osservato in lattanti sani.

Per nessuna età essa risulta correlata con il genere o con il grado di compenso metabolico in gravidanza.

La velocità di crescita a 3, 6 e 12 mesi risulta maggiore nei nati pretermine vs i nati a termine, in maniera significativa ($p=0,01$ a 12 mesi) (Grafico 6).

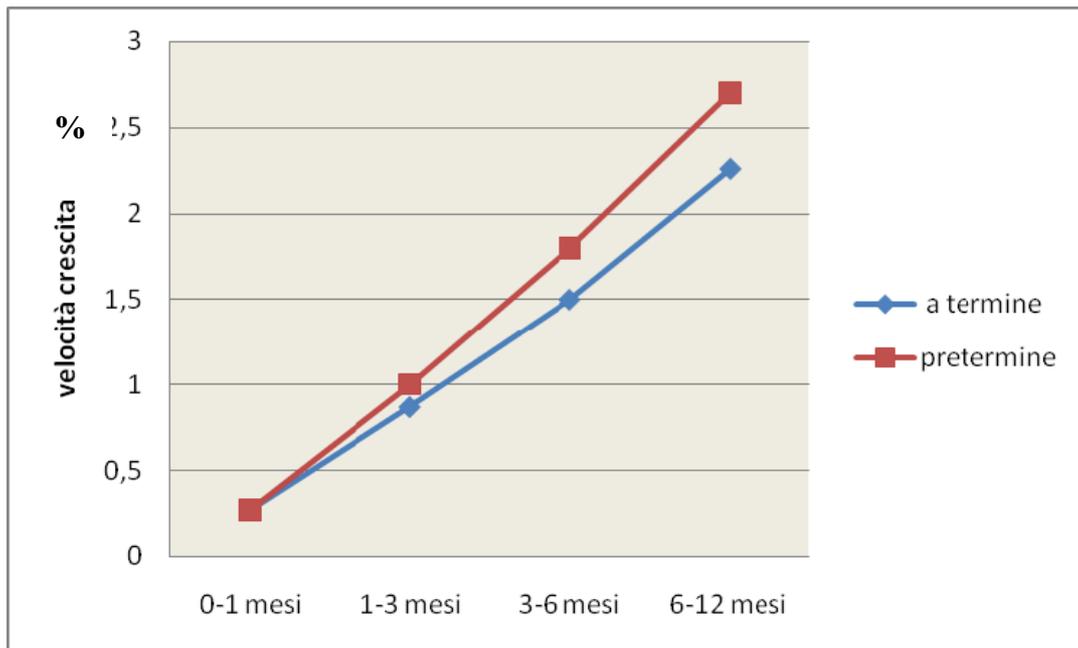


Grafico 6. velocità di crescita nel confronto tra nati a termine e pretermine.

Essa non risulta invece correlata con la condizione di insulinodipendenza materna.

I figli di madre sovrappeso mostrano un trend per una maggiore velocità di crescita a 6 e 12 mesi ($p=0,08$ e $p=0,07$; test non parametrico di Mann-Whitney), mentre non si riscontra alcuna associazione tra velocità di crescita e parametri antropometrici dei padri.

I dati relativi alla circonferenza tricipitale a 12 mesi differiscono significativamente nei nati pretermine per determinazioni maggiori nei figli di madre NIT-GDM vs i figli di madre NIT-GDM ($p=0,034$; test non parametrico di Mann-Whitney).

Non sono emerse differenze nel confronto tra gruppi (pretermine vs a termine; madre insulinodipendente vs madre in dietoterapia) in termini di circonferenza addominale.

Parametri biochimici

I parametri biochimici Emoglobina, bilirubina, azotemia, colesterolo totale, trigliceridi, Insulina ed RBP analizzati in seguito a prelievo preprandiale a 3±1 giorni di vita sono riportati nella tabella successiva (Tabella 6):

		N	Media	DS	Min	Max
Emoglobina	g/dl	43	17,6	2,4	11,70	23,10
Bilirubina	Mg/dl	42	10,5	4,6	,20	18,40
Azotemia	Mg/dl	49	25,7	12,7	8,00	68,00
Colesterolo	Mg/dl	49	84,7	27,9	35,00	200,00
Trigliceridi	Mg/dl	49	126,2	58,2	27,00	327,00
Insulina	μU/ml	43	13,0	11,0	5,00	52,00
RBP	g/l	56	0,0172	0,07	0,010	0,040

Tabella 6. Valori medi dei parametri di laboratorio.

Si è registrata una correlazione negativa tra valori di Insulina basale e Trigliceridemia nei nati pretermine figli di madre con IT-GDM ($p=0.002$), gruppo di pazienti in cui sono stati rilevati valori di trigliceridemia significativamente inferiori (11 mg/dl vs 24.5 mg/dl) rispetto agli altri ($p=0.008$; Test non parametrico Kruskal Wallis).

Sono proprio i pretermine infatti, ed in particolare i figli di madre con IT-GDM a presentare valori di insulina basale significativamente più elevati (in media 22 uU/ml, vs i 10-11 degli altri 3 gruppi ($p=0.035$).

Relativamente al profilo degli acidi grassi circolanti si sono riscontrati livelli significativamente maggiori di acido Eicosatrienoico (ETE; acido grasso polinsaturo la cui sintesi endogena aumenta progressivamente con il deficit di PUFA) nei pretermine nati da

madre con IT-GDM ($p=0.036$) .

Si rilevano inoltre valori di acidi grassi saturi più bassi (18% vs 30%) ed un più elevato rapporto Omega3/Omega6 (34 vs 22) nei nati pretermine vs i nati a termine ($p=0,007$ con test non parametrico di Mann Whitney); tuttavia dal momento che il profilo non risulta influenzato dalla condizione materna di insulinodipendenza o dal tipo di compenso metabolico ottenuto in gravidanza, questo esula dallo scopo della presente tesi.

I valori di Acido Eicosapentaenoico (EPA) e di Acido Docosaesaenoico (DHA) correlano positivamente ($p=0.05$ e $p=0.036$ rispettivamente) con la misurazione della plica tricipitale a 12 mesi nei pretermine ed in tutti i nati da madre NIT-GDM.

Quale riscontro più rilevante è stata osservato che i bambini nati da madre con diabete insulinodipendente hanno livelli più elevati di RBP, pari in media a 0.018 g/l vs 0.014 g/l ($p=0.049$), ed è possibile rilevare nel campione in esame una correlazione positiva tra livelli di RBP e z-scores del peso per l'età a 12 mesi ($p=0.004$; Spearman).

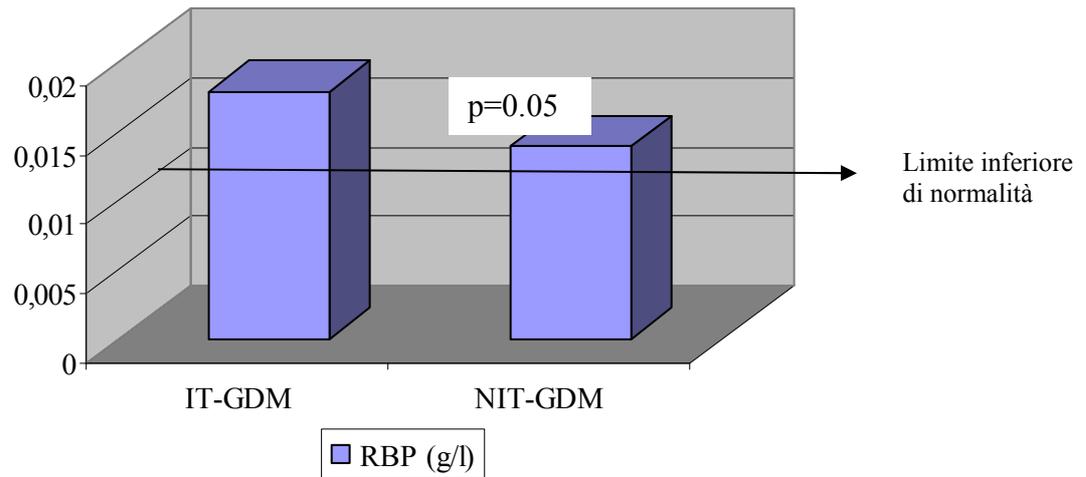
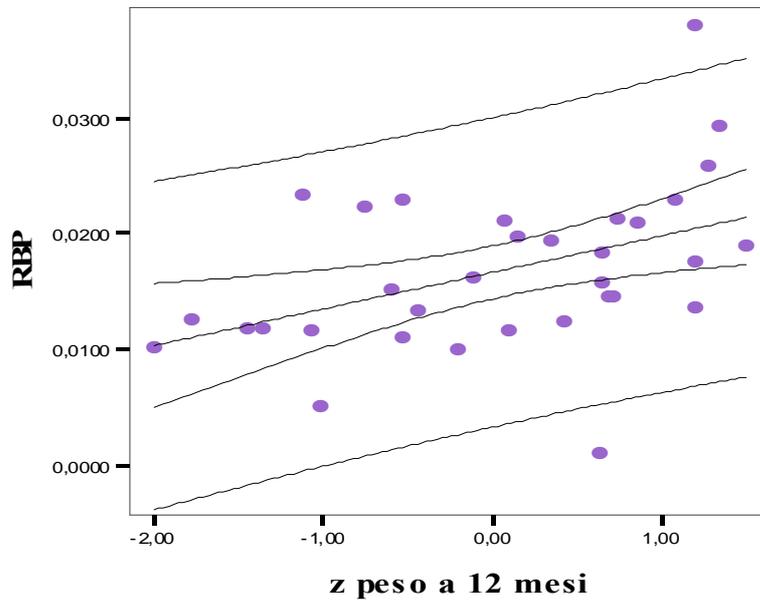


Grafico 7. Valori di RBP medi a 4 giorni in nati da madre con diabete insulino-dipendente e non insulinodipendente.



Linear Regression with
 95,00% Mean Prediction Interval and
 95,00% Individual Prediction Interval

$$\mathbf{RBP = 0,02 + 0,00 * WAZ12}$$

$$\mathbf{R-Square = 0,19}$$

Grafico 8. Regressione lineare tra RBP e z-score del peso a 12 mesi.

Se consideriamo il sottogruppo dei bambini nati da madre con IT-GDM inoltre, la RBP risulta correlata anche allo z-score del peso a 6 mesi ($p=0.01$), ed alla circonferenza addominale a 6 ($p=0.032$) e a 12 mesi ($p=0.032$).

Morbilità

Il 12,5% dei nati ha presentato un distress respiratorio con caratteristiche tipo tachipnea transitoria neonatale nel 42% dei casi e tipo malattia delle membrane ialine nel 58% (4 pretermine di età gestazionale compresa tra 30 e 35 w).

L'incidenza di distress respiratorio scende tuttavia al 7% se si considerano i nati a termine.

Casi di ipoglicemia e di ipocalcemia lievi e transitorie si sono verificati rispettivamente nel 18% e nel 5% dei casi. Tali percentuali salgono al 42% e al 12% rispettivamente se consideriamo il solo gruppo dei pretermine.

Una condizione di ittero senza incompatibilità materno-fetale è stata riscontrata nel 21.4% dei casi, ed è stata trattata con fototerapia radiante in media per 1.5 giorni.

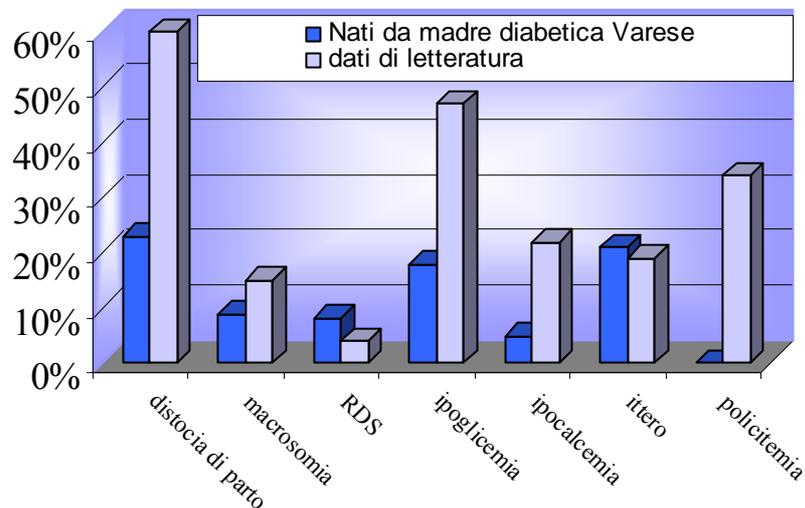


Grafico 9. Morbilità del campione, nel confronto con la letteratura.

Al 26% dei bambini (35% se si considerano i prematuri) è stata diagnosticata una

cardiopatía minore, tra cui , come si può vedere dal seguente grafico:

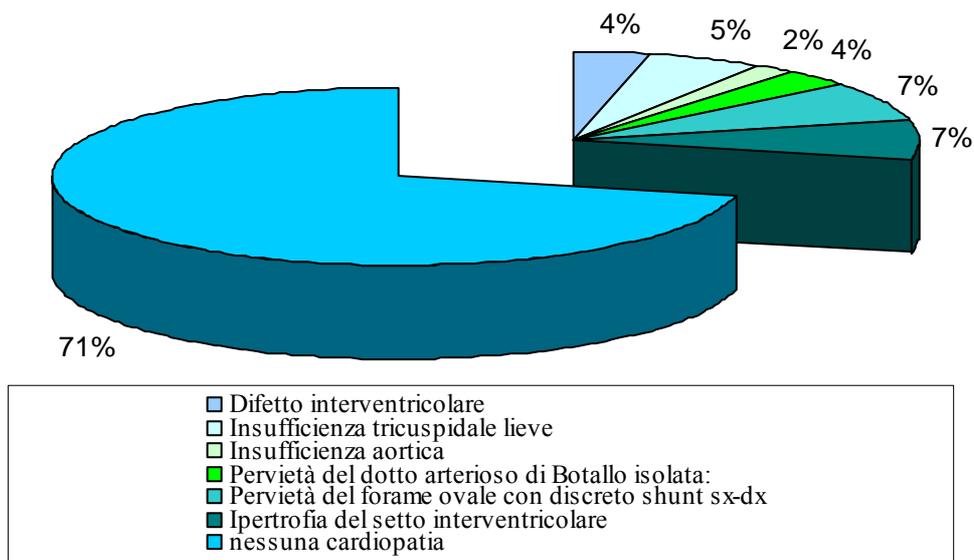


Grafico 10- Incidenza delle cardiopatíe congenite

Nel corso del follow-up non sono emerse per nessuno dei bambini patologie gravi ed in grado di inficiare la crescita somatica.

Tipo di allattamento

I piccoli in esame risultavano allattati al seno con modalità esclusiva nel 67.5% ad un mese di vita, e nel 54% dei casi a 3 mesi di vita. Il 100% del campione a 6 mesi aveva iniziato lo svezzamento (in media a 4.5-5 mesi).

DISCUSSIONE

Le gravidanze apparentemente a maggior rischio sono quelle in cui la gestante è affetta da IT-GDM, poiché sono più frequenti i casi di ritardo nel raggiungimento di un compenso metabolico adeguato. Un primo effetto di questo fenomeno si osserva nella prevalenza di parti distocici, che risulta maggiore nei casi che hanno richiesto il trattamento insulinico (IT-GDM).

Se si suddivide il campione in base al tipo di diabete materno, si osserva che la distocia di parto ha una prevalenza del 40% in seguito a gravidanze complicate da NIT-GDM, mentre sale al 60% nei casi di IT-GDM. Il fenomeno è particolarmente evidente nei parti distocici eseguiti in urgenza, la cui prevalenza che nei casi di NIT-GDM è pari al 12%, sale al 28% nei casi di IT-GDM.

La nascita pretermine non appare correlata né al tipo di diabete materno, né al grado di compenso.

Il peso alla nascita espresso come z-score in sé non appare correlato al tipo di diabete materno, né appare correlato al compenso metabolico in gravidanza, o alla pregressa condizione materna di obesità o sovrappeso.

Si osserva invece un trend positivo tra incremento ponderale medio in gravidanza e peso neonatale.

Per quanto riguarda l'accrescimento dei bambini del campione nel corso del follow-up, emerge che i figli di madre con IT-GDM mantengono z-scores del peso più elevati rispetto ai figli di madre con NIT-GDM. Tale differenza tuttavia è significativa fino ai 3 mesi,

mentre in seguito non è significativa.

Inoltre, i parametri di crescita appaiono entro i limiti della norma per l'età, e non è possibile mettere in evidenza per nessun sottogruppo un accrescimento ponderale eccessivo.

I parametri di valutazione della deposizione di massa grassa (circonferenza addominale e plica tricipitale) appaiono omogenei all'interno del campione, e non è stato possibile rilevare differenze significative nel confronto tra i vari sottogruppi in esame.

Una reale accelerazione della crescita sia staturale che ponderale non è stata rilevata in nessun sottogruppo.

Sul piano biochimico valori di insulina più elevati e livelli di trigliceridi inferiori sono stati riscontrati nei figli di madre diabetica insulinodipendente che sembra siano maggiormente esposti all'effetto anabolizzante dell'insulina.

Il dato più interessante in relazione all'influenza dello stato nutrizionale sulla crescita, è relativo al riscontro di valori più elevati di Retinol Binding Protein tra i figli di madre con diabete insulinodipendente, i quali, seppur non presentando una precoce accelerazione della crescita nel primo anno di vita, presentano valori di z-score del peso più elevati rispetto agli altri. Inoltre i livelli di RBP appaiono fortemente correlati con i gli z scores del peso a 12 mesi.

Il valore predittivo della Retinol Binding Protein per sovrappeso e obesità era già stato osservato in studi di popolazione ampi, che avevano riscontrato una correlazione positiva

tra RBP e BMI in giovani adulti, e tra RBP e insulinoresistenza (**60, 66, 68b**), e che avevano portato gli Autori a concludere che elevati valori serici RBP possono essere considerati a tutti gli effetti un importante fattore di insulinoresistenza e rischio cardiovascolare.

Le caratteristiche di morbilità neonatale sono tipiche del campione in esame: i quadri di distress respiratorio e i disturbi dell'omeostasi glucoelettrolitica appaiono più frequenti rispetto alla popolazione dei nati a termine da gravidanza fisiologica. Tuttavia la macrosomia è meno rappresentata dell'atteso (>15% secondo i dati riportati in letteratura), dal momento che interessa il 9% dei neonati. Anche la frequenza delle complicazioni neonatali precoci sebbene superiore a quella della popolazione generale sembra essere inferiore all'atteso. Questi dati potrebbero far ritenere che la diagnosi precoce ed un attento monitoraggio della gravidanza – come di prassi avviene presso il nostro centro- possano intervenire positivamente nel ridurre gli effetti sul neonato della patologia materna.

L'ipoglicemia neonatale è ad esempio una condizione morbosa che interessa di norma il 2% dell'intera popolazione neonatale. Si stima che i neonati a rischio, quali sono i figli di madre diabetica possano essere soggetti a tale morbilità fino al 60% dei casi. Tuttavia l'applicazione di un protocollo di prevenzione che comprenda un monitoraggio glicemico fin dalle prime ore di vita e l'allattamento precoce, come avviene presso la nostra U.O., è in grado di abbattere questa percentuale fino al 15-20% ed in ogni caso di portare ad un virtuale annullamento delle complicanze ad essa secondarie.

D'altro canto si noti come nel campione in esame l'allattamento esclusivo al seno sia portato avanti da solo il 54% delle madri a tre mesi di vita. Ci si domanda se – sebbene

l'argomento esuli dallo scopo di questa tesi- l'aver iniziato un allattamento misto nei primi giorni di vita (con sospensione delle integrazioni di latte artificiale dopo 24 ore di stabilità glucoelettrolytica, come prevede il protocollo della nostra U.O.) abbia potuto influire negativamente su questo aspetto.

CONCLUSIONI

Dall'analisi del campione in esame non è stata riscontrata una precoce accelerazione della crescita nel primo anno di vita. I bambini reclutati hanno presentato infatti un pattern di crescita che non si discosta da quello della popolazione generale e non sono state riscontrate importanti differenze nel confronto tra i sottogruppi in esame.

Questa rilevazione può da un lato far pensare che l'eccesso ponderale riscontrato da alcuni Autori in figli di madre diabetica in età prescolare non sia altrettanto dimostrabile precocemente, ossia nel corso del primo anno di vita.

E' possibile altresì che una corretta valutazione delle condizioni di rischio in gravidanza, una diagnosi tempestiva di diabete gestazionale e la precoce impostazione di una terapia adeguata, supportata da un attento follow-up, portino allo sviluppo di un feto non sottoposto ad importanti sollecitazioni metaboliche e quindi alla nascita di un bambino meno incline a sviluppare sia le complicanze a breve termine che quelle a lungo termine della malattia materna. Infatti tra i neonati del campione l'incidenza di macrosomia, ipoglicemie, ipocalcemie, policitemia ed ittero è stata inferiore rispetto all'atteso.

Nell'ambito di una crescita ponderale regolare, i bambini che presentano valori di z-scores più elevati sono i figli di madri trattate con insulina in gravidanza.

Nel contesto del valore predittivo che alcuni indici metabolici possono acquisire nel predire una maggiore crescita ponderale in figli di madre diabetica, si è osservata una correlazione tra livelli di RBP e z-scores del peso a 12 mesi. Questo dato ha messo in evidenza la relazione positiva tra la condizione di insulinodipendenza materna, valori di

RBP e valori di z-score a 12 mesi.

Il presente lavoro va quindi a supporto della necessità di valutazione del bambino nato da madre diabetica con studi di follow-up a lungo termine e nell'ambito di una ricerca più mirata alle alterazioni del metabolismo nelle fasi precoci dello sviluppo somatico.

BIBLIOGRAFIA

- 1) T.Harder,. Birth Weight and Subsequent Risk of Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis . Am. J. Epidemiol. (2007) 165(8): 849-857 .
- 2) D.J.P Barker. Fetal origins of coronary heart disease. BMJ 1995; 311: 171-4
- 3) Pettitt DJ et al. Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy., NEJM 1983
- 4) Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR: Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. Pediatrics 2005 Mar; 115(3): 290-6.
- 5) Aerts L. Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. Diabetes Metab Rev 1990
- 6) Plagemann A., J of Maternal Fetal & Neonatal Medicine 2008
- 7) Hales C.N. Barker D.J. Type 2 (non insulin dependent) diabetes mellitus: the trifty phenotype hypothesis. Diabetologia 2003; 35: 395-601
- 8) Weintrob N.Short and long range complication in offspring of diabetic mothers. J of Diabetes and its complication. 1996; 10: 294-301
- 9) Stettler N et al. Infant weight gain and childhood overweight status in a multicenter, cohort study. Pediatrics 2002 Feb;109(2):194-9.
- 10) Cloherty JP. Neonatal Menagement: Diabetes complicating pregnancy.Wiley SS 1995; 169-186
- 11) P. Plomograard. Association between insulin resistance and TNF α in plasma, skeletal and adipose tissue in humans with and without type 2 diabetes. Diabetologia 2007; 50, 2562-2571
- 12) C.M.Rotella: Ormoni gastrointestinali e adipocitari nella patognesi dell'obesita' e

del diabete mellito di tipo 2. GIDM-Rassegna 2004;24, 55-70.

- 13) C.M.Steppan. The hormone resistine links obesity to diabetes. Nature 2001,Jan; 409: 307-312.
- 14) M.Filkova. The role of resistin as a regulator of inflammation: implication for various human pathologies. Clinical Immunology 2009 133, 157-170
- 15) Schwartz M.V. Insuline resistance and obesity. Nature 1999; 402,820.
- 16) C.Rugarli.Manuale di medicina interna sistemica; V Edizione (2005); Masson
- 17) S.L Hyer, H.A. Shahata. Gestational diabetes mellitusCurrent Obstetric ang Ginecology 2005; 15: 368-374
- 18) B.E.Metzger. Summary and racomandation of the fifth international workshop-conferance on gestational diabetes mellitus. Diabetes Care 30; 2, 251-260.
- 19) Wiliams textbook of endocrinology –Wilson pag 1027- 22°edizione.
- 20) Kaaja R. Gestational diabetes: pathogenesis and consequence to mother and offspring. The review of diabetic studies 2008; 5, 194.
- 21) Parretti E, Mecacci F. Third-trimester maternal glucose levels from diurnal profiles in nondiabetic pregnancies: correlation with sonographic parameters of fetal growth., Diabetes Care. 2001; 24(8):1319-23.
- 22) Buchanon CA et al. Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderate obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes. Am J Obstet Gynecol 1990 162;1800.
- 23) Jovanovic-Peterson L. Maternal postprandial glucose levels and infant birth weight: the Diabetes in Early Pregnancy Study. The National Institute of Child Health and Human Development--Diabetes in Early Pregnancy StudyAm J Obstet Gynecol. 1991 Jan;164(1 Pt 1):103-11.
- 24) D.K.James,C.P. Wainer, P.J.Steer, B. Gonik. High risk pregnancy- menagemnt

options. Saunders 1994

- 25) J.S.Sheffield: maternal diabetes mellitus and infant malformation. *Obst&Gin* 100,925-930, 2002
- 26) V.M. Allen, B.A. Armson. Teratogenicity associated with pre-existing and gestational diabetes. *JOGC* 2007, 200.
- 27) Eriksson e coll. Diabetic embriopatya: study with animal and in vitro model. *Diabetes*1991; 40 suppl 2: 94-8.
- 28) Gillman MW, Maternal gestational diabetes, birth weight, and adolescent obesity. *Pediatrics*. 2003 Mar;111(3):e221-6.
- 29) Lucas MJ, Laveno KJ. Early pregnancy glycosylated hemoglobin, severity of diabetes, and fetal malformation. *Am.J. Obstet Gynecol* 1997; 161: 426-431, .
- 30) Yogev Y. Obesity, gestational diabetes and pregnancy outcome *Seminars in Fetal & Neonatal medicine* 2009, (14) ;77-84.
- 31) Halliday HL. Hypertrophic cardiomyopathy in infants of poorly-controlled diabetic mothers.. *Arch Dis Child*. 1981 Apr;56(4):258-63.
- 32) Sardesai MG, Gray AA, McGrath MM, Ford SE. Fatal hypertrophic cardiomyopathy in the fetus of a woman with diabetes.Sardesai MG, Gray AA, McGrath MM, Ford SE. *Obstet Gynecol*. 2001 Nov;98(5 Pt 2):925-7.
- 33) Weintrob N.Short and long range complication in offspring of diabetic mothers. *J of Diabetes and its complication*. 1996; 10: 294-301
- 34) Shchwartz R. Hyperinsulinemia and macrosomia in the fetus of the diabetic mother. *Diabetes Care* 1994;17: 640-648.
- 35) Schwartz R. What is the significance of macrosomia. *Diabetes Care* 1999; 22: 1205-1205
- 36) Barnes-Powell LL. Infants of diabetic mothers: the effects of hyperglycemia on the

fetus and neonate. Neonatal Netw. 2007 Sep-Oct;26(5):283-90.

37) H. William Taesuch, R. Ballrd. Avery's disease of the newborn. Elsevier 2004

38) Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR: Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. Pediatrics 2005 Mar; 115(3): e 290-6.

39) D.W.Halsam. Obesity . The Lancet 2005; 366: 1197- 209.

40) 82

41) Gibson R.S. Principles of nutrition assessment. Oxford: oxford university press, 1990

42) R.M.Pitkin. Assessment of nutritional status of mother, fetus and newborn. The Am j of clinical nutrition. 1981; 34: 658-668.

43) J.Baynes, MH Dominiczak - Biochimica per discipline biomediche, edizione italiana a cura di C. Balduini, 2000; 18: 225-271.

44) 62

45) E.Mears Uso dei valori sierici della prealbumina nella gestione di un piano clinico per il trattamento della malnutrizione. J Clininicaling an assay 1999; 22: 30.

46) J.Baynes, MH Dominiczak - Biochimica per discipline biomediche, edizione italiana a cura di C. Balduini, 2000; 1:24.

47) Georgieff MK. Serum Tranthyretina levels and protein as predictor of weight gain velocity in premature infants. J pediatric gastroenterology nutr 1987; 6: 775-779.

48) M. Promintzer. Insuline resistance is unrelated to circulating retinol binding protein and protein C inhibitor. The Journal of clinical Endocrinology and metabolism 1992; 11: 4306-4312

49) Aeberli. Serum Retinol Binding Protein 4 concentration and its ratio to serum retinol associated with obesity and metabolic syndrome components in children. The J Clin

Endocrinology and Metabolism 2007; 92: 4359-4365.

- 50) Koletzko B., Agostoni C. et al. The roles of long chain polyunsaturated fatty acid in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendation. *J. perinat Med* 2008; 36(6): 548-9
- 51) D.H.Raubenstine, Neonatal serum protein levels as indicators of nutritional status: normal values and correlation with anthropometric data. *J of Pediatric Gastroenterology and nutrition.* 1990; 10: 53-61.
- 52) T.Ueland. Serum Retinol Binding Protein-4 is not strongly associated with insulin sensitivity in normal pregnancy. *Eu J End* 2008; 159: 49-54.
- 53) G.Wolf. Serum Retinol Binding Protein: a link between obesity, insulin resistance , and type 2 diabetes. *Nutrition review,* 2007; 65: 251-256.
- 54) G.Hornatra, Essential fatty acid during pregnancy, Nestlé Nutrition Workshop series Pediatric Program; 55, 83-100.
- 55) D.J.P Barker. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995; 311: 171-4.
- 56) Uauy R. Dietary essential fatty acids in early postnatal life: long term outcomes; Nestlé Nutrition Workshop series Pediatric Program, 55, 101-136.
- 57) Galinier A., et al. Reference Range for micronutrient and nutritional marker proteins...*Early Human Dev* 2005; 81, 583-593).