

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

SCUOLA DI DOTTORATO IN

SCIENZE DELLO SVILUPPO PRENATALE, DIAGNOSI E TERAPIA FETALE

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

XXIII ciclo

TESI DI DOTTORATO DI RICERCA:

"STUDIO DI NUOVI FATTORI PROGNOSTICI ECOGRAFICI FETALI
NELLA GRAVIDANZA CON DIABETE PRE-GESTAZIONALE"

MED/40

DOTTORANDO:
Dr Paolo Ivo Cavoretto
Matricola: R07604

TUTOR:
Chiar.ma Prof.ssa Irene Cetin

COORDINATORE DEL DOTTORATO:
Chiar.mo Prof. Enrico Ferrazzi

A.A. 2010/2011

«Misura ciò che è misurabile,
e rendi misurabile ciò che non lo è.»

Galileo Galilei

INDICE DELLA TESI

1. Introduzione	Pag. 4
2. La placentazione nella gravidanza diabetica	Pag. 5
3. Il monitoraggio glicemico della gravidanza diabetica	Pag. 16
4. Controllo glicemico e complicanze materno-fetali	Pag. 19
4a. La macrosomia fetale	Pag. 25
5. Lo studio ecografico nella gravidanza complicata da diabete mellito	Pag. 30
5a. L'ecografia bidimensionale (2D)	Pag. 30
5b. L'ecografia tridimensionale (3D)	Pag. 32
5c. L'ecografia Doppler	Pag. 36
6. Il primo trimestre	Pag. 41
7. Ipotesi	Pag. 43
8. Materiali e metodi	Pag. 45
8a. Analisi statistica	Pag. 56
9. Risultati	Pag. 60
10. Conclusioni	Pag. 88
11. Sinopsi	Pag. 103
12. Bibliografia	Pag. 104
13. Ringraziamenti	Pag. 137

1. INTRODUZIONE

Il diabete mellito è oggi una patologia in costante espansione in tutto il mondo. Le ragioni di quest'aumento sono molteplici e non tutte note: fra esse, merita menzione il processo di "occidentalizzazione" dello stile di vita, con riduzione dell'attività fisica, relativo eccesso di introito calorico e conseguente induzione di sovrappeso ed obesità.¹ Quest'ultime sono condizioni favorevoli e fattori di rischio per l'insorgenza del diabete di tipo 2.² Non tutto però è spiegabile con questo paradigma, perché anche il diabete di tipo 1 appare in costante crescita di incidenza e prevalenza a livello mondiale.³ All'espansione del fenomeno diabete si accompagna anche, particolarmente per il diabete di tipo 2, la peculiarità presente in maggiore o minore misura in tutti i sistemi sanitari, di un riconoscimento diagnostico insufficiente e tardivo. In conseguenza delle complicanze macro e micro-vascolari che colpiscono i pazienti diabetici, la prima misura per la prevenzione del danno d'organo consiste nel diagnosticare tempestivamente la presenza della malattia in modo da approntare tutte le misure terapeutiche atte alla prevenzione delle complicanze specifiche e non specifiche. In questo contesto può essere utile una revisione dei criteri che definiscono il diabete, ne permettono la diagnosi e ne identificano il tipo. A questo proposito le due fonti più esaurienti e autorevoli sono l'American Diabetes Association (ADA) e la World Health Organization (WHO).⁴⁻⁶

La dichiarazione di St.Vincent nel 1989 auspicava che entro i cinque anni successivi gli esiti delle gravidanze di pazienti diabetiche potessero essere sovrapponibili a quelli delle gravidanze di donne non diabetiche.⁷ Nel 2010 possiamo affermare che questo obiettivo non è stato raggiunto e le pazienti affette da diabete mellito, così come i loro figli, continuano a presentare una aumentata incidenza di complicanze in gravidanza e nel periodo perinatale.⁸⁻¹¹ La percezione di questo fallimento ci ha stimolato a sviluppare un progetto di ricerca per studiare nuovi fattori prognostici precoci per queste gravidanze, nella speranza di produrre evidenze in grado di migliorare le nostre conoscenze del problema.

2. LA PLACENTAZIONE NELLA GRAVIDANZA DIABETICA

La placenta è un organo complesso e di vitalità limitata che svolge numerose funzioni: seleziona il passaggio di sostanze nutritive e gas al feto ed, in direzione opposta, consente lo smaltimento dei prodotti provenienti dai processi catabolici del feto convogliandoli verso la circolazione materna; favorisce il metabolismo energetico per rendere possibili tali scambi; permette modificazioni metaboliche di nutrienti materni destinati al feto; sintetizza ormoni, proteine ed altre molecole connesse alle sue attività durante la gravidanza; opera da barriera immunologica. Nell'adempimento di tutte queste funzioni la placenta agisce anche come sostituto di alcuni organi fetali fintantochè essi non hanno raggiunto la loro completa maturità, sostenendo e proteggendo in tal modo lo sviluppo fetale. La placenta non può essere considerata semplicemente come un barriera di scambio, un filtro molecolare od un veicolo di trasporto, essa svolge numerose funzioni che possono interferire sia con il metabolismo materno sia con quello fetale e con la sua crescita. Più volte è stata sottolineata l'importanza di strette relazioni tra la crescita fetale e placentare.¹²

In passato, si riteneva che la funzione principale della placenta fosse quella di garantire al feto la maggior quantità di ossigeno (O_2) possibile, soprattutto nella seconda metà della gravidanza quando l'aumento del peso fetale è maggiore. Recenti studi combinati in vivo ed in vitro ci hanno permesso di comprendere meglio l'interazione tra madre e feto nel primo trimestre di gravidanza e hanno permesso di ipotizzare che la placenta sia in grado di limitare, più che di facilitare, il rifornimento di O_2 al feto durante l'organogenesi.¹³ Gli stadi precoci dello sviluppo fetale, quindi, si verificano in un ambiente con basse concentrazioni di O_2 , riflettendo il cammino evolutivo. Nelle gravidanze normali esiste un meccanismo ben controllato che ha il compito di bilanciare le necessità metaboliche di feto e placenta ed i potenziali danni causati dai radicali liberi dell'ossigeno (ROS, Reactive Oxygen Species). Sia le cellule embrionali che placentari sono sensibili allo stress ossidativo a causa della loro elevata divisione cellulare e dalla concomitante esposizione del loro DNA.¹⁴ Il sinciziotrofoblasto è particolarmente sensibile, in parte perché è esposto a concentrazioni più elevate di O_2 provenienti dalla madre ed in parte perché contiene basse concentrazioni dei principali enzimi antiossidanti, fondamentali ad inizio gravidanza.¹⁵ E' stato affermato che disordini metabolici materni, come il diabete,

caratterizzati da un' aumentata produzione di ROS, si assocerebbero ad un rischio maggiore di aborti, di vasculopatie e malformazioni fetali indicando che il prodotto del concepimento può essere danneggiato irreversibilmente ad opera dello stress ossidativo.^{14,16} Ci sono prove sempre più evidenti che lo stress ossidativo che deriva da una aumentata attività dei mitocondri placentari e dalla conseguente produzione di radicali liberi, sia il meccanismo che provoca l'alterazione delle funzioni placentari e della reattività vascolare.¹⁷ Questo, a sua volta, può generare stress ossidativo e verosimilmente questi sono i meccanismi che contribuiscono al malfunzionamento generale dell'endotelio fetale nel diabete.¹⁸

L'appropriato sviluppo della placenta riveste un ruolo cruciale nel programma di crescita fetale, cambiando il pattern dei segnali (ormonali) che determinano la crescita fetale, o cambiando la quantità di substrato trasportato al feto, producendo non solo effetti in epoca intrauterina ma anche malattie cardiovascolari o metaboliche durante la vita adulta. Le funzioni placentari durante tutta la gravidanza seguono uno schema a cascata attentamente orchestrato. L'interruzione di questa cascata di eventi può portare ad una vascolarizzazione anormale a livello placentare o del trofoblasto. L'epoca gestazionale in cui questo insulto avviene sarebbe critica per lo sviluppo delle funzioni placentari successive e per il conseguente pattern di crescita fetale. Gli insulti che interferirebbero con il corretto sviluppo placentare comprendono: il danno ipossico ed un alterato stato nutrizionale materno, nei confronti dei quali la placenta dovrebbe adattarsi modificando l'espressione dei trasportatori o la loro attività al fine di mantenere la crescita fetale entro i limiti di norma. L'ipossia è una condizione fisiologica per l'organogenesi ed il tessuto placentare vive normalmente in condizioni di ipossia relativa. L'attività metabolica dei mitocondri placentari porta ad uno stress ossidativo anche nelle gravidanze non complicate ma questa stessa attività sarebbe esacerbata in alcune condizioni patologiche quali, ad esempio la gravidanza diabetica, e potrebbe produrre modificazioni dei legami covalenti proteici determinando un'alterazione dell'attività di proteine. L'ipossia e lo stress ossidativo produrrebbero alterazioni a livello placentare che, a loro volta, potrebbero rappresentare il meccanismo che lega l'alterata funzione placentare al programma di crescita fetale.¹⁴⁻¹⁶

Fondamentale per lo sviluppo ed il funzionamento della placenta e la sue potenziali alterazioni causate dal diabete materno è la durata dello squilibrio glicemico. Quanto prima, durante la gravidanza, si riesce ad ottenere un buon compenso glico-metabolico,

tanto minori saranno le conseguenze negative sullo sviluppo placentare e, quindi, sulla crescita ed il metabolismo fetale. Il feto è quasi totalmente dipendente dal glucosio materno che oltrepassa la placenta, dal momento che la sua produzione di glucosio è minima. Grazie alla variazione del gradiente di concentrazione artero-venoso del glucosio a livello della circolazione uterina ed ombelicale, la placenta recupera glucosio dalla circolazione materna per poi rilasciarlo sul versante fetale. Al termine della gravidanza è comune il riscontro di un gradiente materno-fetale relativamente alla concentrazione plasmatica del glucosio.¹⁹ L'utilizzo di glucosio da parte del feto in gravidanza ammonta all'incirca a 38-43 micromol/Kg con valori di glicemia materna di circa 100 mg/dL.^{20,21} Dal momento che il passaggio trans-placentare del glucosio è direttamente proporzionale al gradiente materno-fetale, l'iperinsulinismo fetale determinerà una riduzione della glicemia fetale con conseguente aumento del flusso trans-placentare di glucosio per mantenere l'euglicemia fetale. Questo dato è supportato dall'apparente indipendenza della glicemia fetale dai livelli insulinici fetali.²²

Tra le proteine plasmatiche materne, solo le IgG e l'albumina sono in grado di essere trasportate al feto in quantità significativa. Quindi, gli aminoacidi materni costituiscono la maggior fonte di azoto sia per la placenta che per il feto. La concentrazione totale di aminoacidi è superiore nel plasma fetale rispetto alla circolazione materna.²³ La concentrazione di gran parte degli aminoacidi è superiore a livello placentare rispetto sia alla circolazione materna che a quella fetale, a causa, probabilmente di un maggior contenuto a livello del sinciziotrofoblasto.²⁴ Elevate concentrazioni di aminoacidi sono tendenzialmente associate a elevata sintesi proteica tipica dei tessuti in rapida crescita. Nelle gravidanze complicate da diabete la concentrazione di numerosi aminoacidi è selettivamente aumentata a livello della circolazione fetale, senza che questo sia evidente a livello della circolazione materna. Ciò suggerisce fortemente un alterato metabolismo aminoacidico a livello placentare, fetale o di entrambi o alterazioni nel meccanismo di trasporto materno-fetale.^{24,25}

Il flusso sanguigno utero-placentare e feto-placentare permette la distribuzione e la rimozione dei nutrienti attraverso l'area di scambio, cioè il sinciziotrofoblasto e l'endotelio. L'entità degli scambi materno-fetali è determinata e autolimitata dall'entità del flusso sanguigno tra madre e feto. Comunque, esiste anche una relazione per i trasporti carrier-mediati come è ben evidente per il glucosio. L'assenza di innervazione suggerisce

che il tono vascolare nella circolazione placentare possa essere regolato da variazioni locali mediate da alcuni metaboliti tra i quali figura l'ossido nitrico (NO). I dettagli con cui questo avviene non sono ancora del tutto chiari ma, verosimilmente, riveste un ruolo importante la produzione locale di componenti vasocostrittori e vasodilatatori come gli eicosanoidi, le endoteline.

L'interazione tra trofoblasto e decidua materna si modifica durante le fasi della gravidanza. Recenti studi anatomici ed in vivo hanno dimostrato che la placentazione nella specie umana non è di tipo emocoriale ad inizio gravidanza. Al momento dell'impianto, il trofoblasto extravillare invade non solo il tessuto uterino ma forma anche un "guscio" a livello della decidua. Le cellule che costituiscono questo "guscio" ancorano la placenta al tessuto materno e formano dei "tappi" al livello delle estremità delle arterie utero-placentari.^{26,27} Il "guscio" ed i "tappi" agiscono costruendo un labirinto in grado di filtrare il sangue materno, permettendo una lenta infiltrazione di plasma, ma non un vero e proprio flusso sanguigno, nello spazio intervillare.²⁶ Alla fine del primo trimestre, i "tappi" trofoblastici vengono progressivamente rimossi, permettendo al sangue materno di scorrere più liberamente ed in modo continuo all'interno dello spazio intervillare. Durante la fase di transizione tra le 10-14 settimane, scompaiono i due terzi della placenta primitiva, la cavità esocelomatica viene oblitterata dalla crescita del sacco amniotico ed il sangue materno può fluire attraverso tutta la placenta.^{13,27,28} Questi eventi portano il sangue materno più vicino ai tessuti fetali, facilitando gli scambi gassosi e di nutrienti tra la circolazione materna e fetale. L'invasione da parte del citotrofoblasto nella decidua materna e, in un secondo tempo, nelle arterie spirali, determina un rimodellamento di queste ultime come vasi a bassa resistenza. Qualsiasi danno durante tale processo può produrre una riduzione del flusso materno a livello dello spazio intervillare. Il diabete è associato a modeste modificazioni delle resistenze vascolari delle arterie uterine. È stato riportato un minimo aumento delle resistenze vascolari delle arterie uterine nelle pazienti affette da diabete mellito e questo dato riflette verosimilmente la vasculopatia pre-gestazionale.^{29,30} È stato proposto che alcune di queste alterazioni originino da un'apertura inadeguata delle arterie spirali causata da un'invasione troppo superficiale del citotrofoblasto, sebbene questa sia solo un'ipotesi e supportata da evidenze contrastanti. È stato rilevato da alcuni autori che nelle pazienti affette da diabete gestazionale esiste una correlazione positiva tra l'impedenza vascolare delle arterie uterine e il peso fetale alla nascita.³¹ Tale relazione non sembra essere correlata con i valori glicemici materni, suggerendo in questo modo che

l'iperglicemia "per se" non sia un fattore causale. Ciò è supportato anche dall'osservazione che l'iperglicemia acuta durante la gravidanza non influenza le caratteristiche del flusso ematico delle arterie uterine e dell'arteria ombelicale. Quindi, l'aumento del trasporto placentare dei nutrienti flusso-mediato può non essere un meccanismo in grado di determinare, da solo, la macrosomia fetale.

Tutti gli elementi destinati ad essere trasferiti al feto devono prima essere recuperati dalla membrane dei microvilli del sinciziotrofoblasto, il tessuto che è a diretto contatto con il sangue materno nello spazio intervillare. Una volta entro il sincizio, le molecole, vengono, in parte sequestrate per essere modificate (lipidi), in parte metabolizzate per le necessità della placenta (glucosio), in parte lasciano il sinciziotrofoblasto oltrepassando la membrana del sinciziotrofoblasto. L'intera superficie totale del sincizio che fronteggia la circolazione materna e l'intera superficie dei capillari feto-placentari che fronteggiano il sangue fetale, è di circa 12 m^2 .³² Circa il 90% della superficie del sinciziotrofoblasto è ricoperta da microvilli che aumentano la superficie di 7 volte circa. Circa il 5-10% della superficie del sinciziotrofoblasto è costituita da cellule epiteliali. Questa è una superficie specializzata che permette gli scambi verso il feto. In queste aree il sinciziotrofoblasto è molto sottile ed è sprovvisto di organismi citoplasmatici e le lamine basali del trofoblasto e dell'endotelio dei vasi feto-placentari sono fuse. In questo modo, non esiste tessuto stromale che divida il sinciziotrofoblasto dall'endotelio. Questa architettura permette la "diffusione a breve distanza" tra il flusso ematico materno e quello fetale e rappresenta la barriera materno fetale.

Il diabete è associato a modificazioni maggiori della struttura e dell'organizzazione della placenta determinando, così, una moltitudine di patologie alle quali, genericamente, ci si riferisce con il termine "disfunzioni placentari". Nel diabete la superficie di scambio è particolarmente aumentata a livello dell'albero villare periferico. La distanza di diffusione tra la circolazione sistemica materna e fetale è aumentata a seguito di un ispessimento della membrana basale del trofoblasto costituita da maggior quantità di collagene, soprattutto di Tipo IV, contenente una maggior quantità di carboidrati probabilmente per glicosilazione non-enzimatica. Questo processo imita uno stato di invecchiamento accelerato. L'aumento della frazione di acido ialuronico ed eparan solfato contribuisce ad incrementare il contenuto totale di glicosaminoglicani nel tessuto connettivo del villo. L'insieme di tutte queste modificazioni morfologiche muta la funzione di barriera del trofoblasto ed, in modo

particolare, i meccanismi di trasporto trans-placentare rispetto alle gravidanze non complicate.

L'ipossia fetale è una conseguenza di un ispessimento della membrana basale del trofoblasto che può stimolare la sintesi placentare di fattori angiogenici come il fetal growth factor (FGF), il vascular endothelial growth factor (VEGF) ed il placental growth factor (PLGF). Nel diabete tipo 1 lo stroma dei villi è leggermente edematoso con una over-rappresentanza di cellule di Hofbauer che sono i macrofagi stanziali placentari. L'aumento di numero di questi macrofagi può contribuire ad un maggior rilascio di citochine a livello locale e, in un secondo tempo, modificare le funzioni metaboliche ed endocrine placentari. L'aumento dell'attività metabolica mitocondriale a livello placentare, durante tutta la gravidanza, produce un aumento dello stress ossidativo. Questo è aumentato fortemente nelle gravidanze complicate da diabete e può essere misurato attraverso la produzione di ROS o attraverso la diminuzione dei livelli di enzimi antiossidanti.^{33,34} Il trofoblasto e l'endotelio vascolare della placenta sono siti di produzione di ossido nitrico. Grazie all'interazione con superossidi prodotti localmente si ottiene la formazione di perossidi fortemente pro-ossidanti. Una loro caratteristica azione è la capacità di modificare i legami covalenti proteici determinando così l'acquisizione o la perdita di determinate funzioni da parte della proteina su cui agiscono. Si è visto che residui di nitriltirosina sono aumentati nella placenta di donne diabetiche.³⁵ Il diabete materno, inoltre, è associato ad un aumento dell'area di superficie capillare con una proliferazione capillare e penetrazione nel trofoblasto di nuovi piccoli vasi appena formati. La iper-vascularizzazione risultante e l'aumento dell'area di scambio a livello della superficie facilita la diffusione dell'ossigeno attraverso la placenta come meccanismo di compenso del trasporto diffusione-limitato di sostanze dalla madre al feto che è stato danneggiato. La down-regulation dell'espressione delle molecole di adesione delle tight-junction a livello della superficie partecipa nel determinare disordine nelle normali funzioni di barriera endoteliali e nei processi di angiogenesi.

Il riscontro di placentomegalia come risultato di un aumento della cellularità del tessuto parenchimale è riflesso dal maggior contenuto di DNA nelle pazienti affette da diabete pre-gestazionale e da un minor contenuto in quelle affette da diabete gestazionale.³⁶ La placentomegalia è correlata alla macrosomia fetale confermando la stretta relazione tra peso placentare e peso fetale. Entrambi tendono a normalizzarsi grazie al miglioramento

del compenso glicemico raggiunto durante la gravidanza. Concentrazioni insuliniche fetali inferiori, derivanti da un miglior controllo glicemico materno, potrebbero potenzialmente limitare l'effetto fitogeno dell'insulina nelle cellule placentari. Un'altra classica caratteristica della placenta nella gravida diabetica è un più alto contenuto di glicogeno, trigliceridi e fosfolipidi rispetto a ciò che avviene nelle gravide non affette. Questo è indice di un' aumentata capacità di accumulo di nutrienti.

Numerosi studi si sono impegnati nell'approfondire i meccanismi che portano ad una aumentata disponibilità di glucosio durante l'ultimo trimestre di gravidanza, quando la crescita fetale risulta essere massima, necessitando così della presenza di sistemi di trasporto del glucosio materno rapidi e di grande portata. La bassa permeabilità della membrana basale del sinciziotrofoblasto e la minima area della sezione dei canali sinciziali transmembrana non garantisce sufficiente capacità di trasporto per soddisfare la richiesta fetale; così che risulta necessario un sistema di trasporto trasportatore-mediato. Il ruolo dei trasportatori per il glucosio e la loro regolazione sembrerebbe rivestire un ruolo critico nei primi stadi di sviluppo e di crescita fetale. Nella maggior parte dei casi il trasporto del glucosio attraverso la placenta in direzione del feto segue un gradiente discendente coinvolgendo l'isoforma GLUT1 come trasportatore principale. A livello placentare sono state isolate anche le isoforme GLUT3, GLUT12 e l'isoforma GLUT4 insulino-regolata. La presenza dell'isoforma GLUT3 nel tessuto placentare del primo trimestre suggerisce che possa essere un componente importante nel trasporto del glucosio ad inizio gravidanza. GLUT1 è localizzato a livello del trofoblasto dove è situato sui microvilli e sulla membrana basale in comunicazione rispettivamente con la circolazione materna e quella fetale. Il sistema di trasporto ha un'alta capacità di saturazione a livelli di glucosio superiori a 20 mmol/L. Questo sistema permette un rapido passaggio di glucosio dalla madre al feto. Come avviene anche in altri tessuti, la GLUT1 a livello del trofoblasto è regolata dai livelli ambientali di glucosio, cioè è up-regolata in condizioni di ipoglicemia e down-regolata in condizioni di iperglicemia. E' stato dimostrato, infatti, come l'insulina svolga un ruolo di up-regulation su GLUT1 in diversi tipi di cellule. Inoltre sia in condizioni di ipossia cronica che acuta, la trascrizione di GLUT1 risulta essere aumentata. L'espressione dei trasportatori a livello della membrana basale e la loro attività è aumentata nelle donne diabetiche del 97 e 59%, rispettivamente. Una perdita della funzione di GLUT1 sulla superficie del trofoblasto è determinata da una ridotta trascrizione di GLUT1 e, quindi, da una traslazione, così come avviene in caso di una

traslocazione di GLUT1 indotta dall'iperglicemia, dalla superficie cellulare all'interno della cellula.^{37,38}

Studi di cinetica molecolare hanno evidenziato che la perdita di GLUT1 a livello della superficie crea delle alterazioni nell'up-take del glucosio solo a concentrazioni di circa 15 mmol/L o superiori, concentrazione che, peraltro non viene raggiunta nelle pazienti diabetiche con un buon compenso. Questa risposta di GLUT1 all'iperglicemia deve essere acquisita durante la gravidanza, perché è assente nel trofoblasto del primo trimestre. A questo punto della gestazione i corpi chetonici e l'insulina sembrano essere in grado, rispettivamente, di ridurre o aumentare i livelli di GLUT1. A termine della gravidanza il diabete di tipo 1 si associa ad un' aumentata espressione di GLUT1 a livello della membrana basale, ma non a livello della membrana dei microvilli o del sinciziotrofoblasto. I livelli totali di GLUT1, GLUT3 e GLUT4 sembrano non essere modificati nelle pazienti diabetiche.

Le capacità di trasporto trasportatore-mediato del glucosio sono influenzate da numerose variabili ma, sembra evidente che a valori glicemici patologici (superiori a 8 mmol/L) non esistano delle modificazioni significative nel passaggio di glucosio dalla madre al feto ed il peso della placenta, in questi casi, deve essere tenuto in considerazione. Sembrerebbe che le modificazioni dei trasportatori che avvengono a livello molecolare siano controbilanciate da modificazioni morfologiche come, ad esempio, un' aumentata area di scambio ed un ispessimento della membrana basale con conseguente aumento della distanza di diffusione. Alla fine, comunque, il determinante maggiore nel flusso di glucosio attraverso la placenta è il gradiente di concentrazione materno-fetale con il contributo di modificazioni del flusso sanguigno. Anche i trasportatori GLUT3, GLUT4 e GLUT12 sono coinvolti nel trasporto del glucosio, sebbene il loro ruolo non sia ancora del tutto chiaro ma, la placenta potrebbe aver sviluppato dei meccanismi di recupero del glucosio dalla circolazione fetale. Infatti, il glucosio viene trasportato anche in senso retrogrado dal feto verso la placenta. Tale processo è aumentato nel diabete. Questi trasportatori sarebbero in grado di estrarre il glucosio dalla circolazione fetale e di accumularlo all'interno delle cellule endoteliali sottoforma di glicogeno, prevalentemente attorno ai vasi feto-placentari. Quindi l'aumento del glicogeno riscontrato nelle pazienti diabetiche deriverebbe da un aumento dell'up-take di glucosio dalla circolazione fetoplacentare. Questo potrebbe spiegare perché la placenta diabetica accumula più glicogeno

rispetto a quella delle pazienti non-diabetiche, sebbene la sintesi di glicogeno a livello trofoblastico non sia stimolata dall'insulina o dall'iperglicemia. Non è noto se l'insulina fetale sia in grado di stimolare l'up-take di glucosio nell'endotelio mediante l'attivazione di GLUT4 o GLUT12 e, di conseguenza, anche la glicogenosintesi, ma, è stato rilevato un chiaro effetto dell'insulina fetale sui livelli placentari di glicogeno con un lieve aumento di glicogeno nel fegato fetale. Il glicogeno fetale e placentare accumulato può essere rilasciato in caso di aumentata necessità come, ad esempio, durante il travaglio di parto. A causa dei bassi livelli di glucosio-6-fosfatasi, il prodotto finale è il lattato in particolare in condizioni di ridotta ossigenazione.

Tutti questi dati fanno supporre che la placenta possa funzionare da tempone per gli eccessi ed i deficit di glucosio fetale almeno al termine della gravidanza. Di conseguenza, quando questa capacità placentare si esaurisce, avremo una iperglicemia fetale ed una iperinsulinemia fetale persistente.³⁹

Nelle pazienti affette da diabete mellito la placenta è verosimilmente oggetto di numerose altre modificazioni. L'entità di queste dipende soprattutto dalla qualità del compenso glicemico materno e quindi, dalla glicemia fetale. Modificazioni strutturali della placenta sono state diagnosticate soprattutto a livello della superficie fetale. Nelle pazienti affette da diabete tipo 1 con una crescita fetale superiore alla norma l'attività in vitro dei trasportatori per il glucosio e per alcuni tipi di aminoacidi, così come per alcune lipoproteine placentari, è risultata aumentata. Inoltre, sia l'osservazione diretta di gravidanze diabetiche, sia esperimenti sugli animali, suggerisce che anche brevi periodi di scompenso metabolico avvenuti all'inizio della gravidanza possono influenzare la crescita dalla placenta e le sue funzioni di trasporto per il resto della durata della gravidanza, contribuendo, così ad una eccessiva crescita fetale. L'aumentato deposito di glucosio a livello placentare sottoforma di glicogeno può contribuire a proteggere il feto dagli incrementi glicemici, sebbene entro alcuni limiti.

La crescita fetale è regolata da un bilanciamento tra la richiesta di nutrienti da parte del feto, determinata dal suo potenziale di crescita genetico ed il rifornimento placentare materno. Fattori che determinano tale rifornimento di nutrienti includono la nutrizione materna ed il suo metabolismo, il gradiente di concentrazione transplacentare, il flusso sanguigno utero-placentare, le dimensioni della placenta e le sue capacità di trasporto.

In accordo con l'ipotesi di Pedersen, la crescita esagerata dei feti di madri diabetiche è il risultato di una aumentata disponibilità di substrati e di un ambiente endocrino permissivo che, in ultimo, conduce ad una aumentata adiposità. In questo modello, quantità aumentate di glucosio nella madre, così come livelli aumentati di aminoacidi e lipidi, vengono trasportate al feto dove stimolano la secrezione insulinica determinando iperinsulinemia.⁴⁰ Anche periodi di moderata iperglicemia materna sarebbero sufficienti per aumentare la disponibilità di glucosio nel feto. In aggiunta, un'altra possibilità, è quella che modificazioni nella capacità della placenta di trasferire nutrienti e del suo metabolismo possano contribuire all'anomala crescita fetale nelle gravidanze complicate da diabete. L'aumentata massa placentare permetterebbe un aumento degli scambi di nutrienti aumentando l'area di scambio per tali processi.⁴¹ Modificazioni nel trasporto di queste sostanze, dovute sia ad un aumento della superficie di scambio, sia ad un'aumentata densità delle molecole di trasporto aumenterebbe ulteriormente la quantità di substrati a disposizione del feto e la sua crescita.

Come abbiamo precedentemente sottolineato, in accordo con quanto osservato da Powell, sia l'attività di trasporto del glucosio, sia l'espressione dell'isoforma del trasportatore GLUT1 sono aumentate a livello della membrana basale plasmatica del sinciziotrofoblasto.⁴¹ Dal momento che il trasporto di glucosio attraverso la membrana basale rappresenta il fattore limitante del suo trasporto transplacentare, tutte queste modificazioni provocherebbero un aumentato flusso di glucosio verso il feto anche quando i livelli glicemici materni vengono mantenuti entro i limiti di normalità. E' stato osservato, inoltre che anche la capacità di trasporto degli aminoacidi da parte del Sistema A è aumentata nei feti LGA di donne affette da diabete tipo 1.⁴² Anche i sistemi di trasporto di altri nutrienti così come quelli associati al calcio transplacentare ed il trasporto di lipidi mostrano dei cambiamenti nelle placente di donne diabetiche associate a crescita fetale aumentata.⁴³ Le differenze nella capacità di trasporto placentare osservate nelle donne con diabete tipo 1/LGA vs donne affette da diabete gestazionale/LGA suggeriscono un potenziale ruolo dell'insulina come mediatore delle alterazioni del trasporto placentare. Dati preliminari di studi condotti suggeriscono un possibile ruolo dell'insulina nel regolare alcuni aspetti del trasporto di ioni e lipidi in cellule del trofoblasto coltivate.^{44,45}

Considerando ciò, la up-regulation dei trasportatori placentari, probabilmente legata alla regolazione dei livelli insulinici, spiegherebbe l'aumentata incidenza di complicanze (es.LGA) in queste gravidanze, nonostante i normali livelli glicemici materni. E' possibile che il ruolo dell'insulina nella patofisiologia della crescita fetale aumentata non sia limitato agli effetti del trasporto placentare: Desoye osservò che l'iperinsulinemia diabete-associata che si verifica nella circolazione materna e fetale può avere profonde ripercussioni sullo sviluppo placentare e sulle sue funzioni durante i diversi momenti della gravidanza. La sensibilità della placenta nei confronti dell'insulina si modifica nel tempo e nello spazio partendo dal trofoblasto nel primo trimestre della gravidanza fino all'endotelio a termine della gravidanza.^{46,47} Questo permetterebbe all'insulina fetale di agire direttamente sulla placenta mediante i recettori per l'insulina localizzati sull'endotelio placentare. Indirettamente, l'insulina fetale può provocare modificazioni nel feto stesso che poi si possono ripercuotere sulla placenta.

Anche nelle donne gravide affette da diabete tipo 1 che si sottopongono a numerosi controlli, il compenso glico-metabolico ad inizio gravidanza può essere subottimale.⁴⁸ Ericsson condusse numerosi esperimenti sugli animali per verificare l'ipotesi che brevi periodi di iperglicemia verificatisi ad inizio gravidanza possano interferire danneggiando le funzioni di trasporto della placenta per tutto il resto della gravidanza, portando così ad una crescita fetale abnorme. Una temporanea iperglicemia moderata ad inizio gravidanza determina un aumento del peso fetale e della placenta a termine. Questi studi sono riusciti a dimostrare che brevi periodi di scompenso glicemico all'inizio della gravidanza possono alterare le funzioni di trasporto e la crescita sia della placenta che del feto per l'intera durata della gravidanza. I meccanismi che permettono che questo avvenga devono ancora essere spiegati ma potrebbero essere in relazione con l'aumento delle dimensioni della placenta o un aumento del trasporto di nutrienti chiave.⁴⁹

3. IL MONITORAGGIO GLICEMICO DELLA GRAVIDANZA DIABETICA

La valutazione clinica del compenso glicemico nella paziente affetta da diabete mellito in gravidanza è affidata principalmente a controlli seriatî della glicemia capillare pre e post prandiale attraverso i comuni reflattometri o i nuovi pi sofisticati sensori sottocutanei ed attraverso un monitoraggio long-term ottenuto mediante il dosaggio dell'emoglobina glicosilata (HbA1c). Quest'ultima presenta un valore stabile e correlato al profilo glicemico medio dei 30-60 giorni precedenti. Esistono evidenze che dimostrano come valori elevati di HbA1c siano associati ad un aumentato rischio di esiti negativi della gravidanza (aborto, morte in utero, anomalie congenite, macrosomia). Comunque, non è stato definito un valore di emoglobina glicata al di sotto del quale ulteriori miglioramenti del valore stesso non determinino benefici.⁵⁰⁻⁵³ L'emoglobina glicosilata, comunque, sembra avere una capacit  limitata nella possibilit  di predizione di outcomes avversi in ciascuna gravidanza, in termini di sensibilit  e specificit . Nonostante un aumento di circa sei volte del rischio di eventi negativi dal pi basso al pi alto quintile dei livelli di HbA1c, questi valori sono stati di scarso valore nel prevedere i possibili esiti di ciascuna gravidanza. Il feto, infatti, pu essere vulnerabile agli effetti dannosi dell'iperglicemia che si verifica durante un breve intervallo di tempo, e l'emoglobina glicosilata potrebbe non riflettere le reali variazioni glicemiche istantanee.⁵³

Alcuni autori hanno riportato come l'associazione tra i livelli di HbA1c nella seconda met  della gravidanza ed il rischio di partorire feti macrosomi o con sviluppo superiore al 90 percentile (large for gestational age o LGA) dipenda dall'indice di massa corporea (BMI) materno pre-gravidanza, e che l'ottimizzazione del controllo glicemico nelle donne con un valore elevato di BMI prima della gravidanza potrebbe essere utile nella prevenzione di feti LGA, mentre risulta essere di valore incerto nelle pazienti con BMI nella norma.⁵⁴⁻⁵⁷

È stato di recente proposto l'utilizzo in gravidanza di un relativamente nuovo sistema di monitoraggio continuo della glicemia (continuous glicemic monitoring system, CGMS) in grado di misurare i livelli di glucosio presenti nel fluido extracellulare del tessuto interstiziale sottocutaneo e di registrare contemporaneamente i pasti, le iniezioni di insulina, l'esercizio fisico.⁵⁸ Questo sistema è stato utilizzato per valutare il controllo glicemico delle pazienti, e per verificare se esistesse un valore predittivo per le

complicanze ostetriche del diabete mellito. Esistono evidenze che dimostrano una associazione tra compenso glicemico materno e peso fetale alla nascita, non risulta tuttavia chiaro l'epoca di gravidanza durante la quale una più stretta sorveglianza glicemica sia da ritenere più importante.⁵⁹⁻⁶² Alcuni autori concludono che l'incidenza di macrosomia neonatale possa essere ridotta grazie ad un più stretto controllo del diabete dal momento del concepimento e durante il primo trimestre di gravidanza, mentre altri studi mostrano che i valori glicemici del secondo ed terzo trimestre sarebbero legati alla morbilità neonatale.⁶⁰⁻⁶² Lo studio di Kerssen mostra un'elevata percentuale di neonati LGA (48%) nelle donne affette da diabete tipo 1, nonostante valori di emoglobina glicata entro i limiti di norma ($\leq 7.0\%$).⁵⁸ Nello stesso studio i feti LGA alla nascita, erano già tali prima della 30 settimana. Inoltre, nel secondo trimestre di gravidanza, le madri di questi bambini, hanno avuto valori glicemici significativamente più elevati durante la maggior parte della giornata rispetto a quelle che non hanno avuto bambini LGA o, i cui figli fossero LGA solo al termine. Questi dati indicano che la crescita dei feti che diventano macrosomi inizia relativamente presto durante la gravidanza e, verosimilmente, è dovuta ad elevati livelli glicemici materni. I livelli materni di HbA1c, che esprimono la media delle glicemie delle 6-8 settimane precedenti, non sono, o sono scarsamente, in relazione al peso fetale e generalmente spiegano meno del 10% della variazione del peso alla nascita. Lo studio appena citato non ha dimostrato una correlazione significativa tra i valori di HbA1c del primo e del secondo trimestre ed il peso alla nascita, mentre ciò è avvenuto per HbA1c del terzo trimestre, pur con una debole significatività statistica e non riuscendo in questo modo a spiegare l'eterogeneità dei pesi fetali. La media dei valori glicemici postprandiali di tutta la gravidanza ha dimostrato di riuscire a spiegare circa il 40% di questa variazione di peso. Questo ci suggerisce che i valori della glicemia postprandiale più che quelli della glicemia basale o la media dei valori glicemici, influenzino la crescita fetale e le dimensioni fetali alla nascita.⁵⁸

Non sembra esistere una chiara correlazione tra il livello di HbA1c ed il profilo glicemico delle 24 ore misurato con il metodo CGMS. Questo potrebbe spiegare la debole correlazione tra i livelli di emoglobina glicosilata ed il peso fetale alla nascita. I picchi glicemici postprandiali non riescono ad essere rilevati con HbA1c e talora nemmeno con la consueta valutazione della glicemia capillare. Questa difficile valutazione ed oggettivazione del profilo glicemico potrebbe spiegare le difficoltà incontrate nello stabilire una reale correlazione tra il controllo glicemico materno ed il peso fetale alla

nascita. E' ipotizzabile che il sistema CGSM possa ridurre queste difficoltà descrivendo dettagliatamente la glicemia istantanea. Al momento esistono alcune precedenti evidenze scientifiche che potrebbero supportare l'ulteriore studio di tale metodica, strumento promettente per il monitoraggio glicemico della gravida affetta da diabete mellito.^{58, 63-65}

4. CONTROLLO GLICEMICO E COMPLICANZE MATERNO-FETALI

Il diabete mellito esercita numerose ripercussioni sull'andamento della gravidanza e sul prodotto del concepimento fin dalle sue primissime fasi. La malattia può causare, infatti, una riduzione della fertilità materna e può danneggiare lo sviluppo dell'embrione nei suoi diversi stadi. Le donne diabetiche mostrano, inoltre, un'aumentata incidenza di abortività spontanea e studi condotti tra gli anni '50 e '70 hanno evidenziato un rischio di aborti spontanei doppio rispetto alla popolazione non diabetica. Questi dati risalgono però ad un'epoca in cui non era stato messo in atto il monitoraggio. Studi successivi che hanno analizzato le casistiche dagli anni '80 al 2000 hanno mostrato minori differenze nella percentuale di aborti spontanei tra le donne diabetiche e quelle non diabetiche. Nell'ultimo decennio alcuni autori hanno riscontrato percentuali cumulative medie di aborto spontaneo solo leggermente superiori nel diabete rispetto alla gravidanza fisiologica e circa del 12-13%.⁶⁶. Inoltre il livello di iperglicemia tollerato nelle gravidanze diabetiche prima di raggiungere la soglia di sensibilità fetale sembrerebbe più alto rispetto a quello nelle gravidanze non diabetiche, implicando così difese materne, placentari, o fetali nei confronti dello stress provocato dall'iperglicemia. Si può dedurre che queste significative differenze sono causate da differenze nel controllo della malattia diabetica e, con un miglioramento dello stesso, la percentuale degli aborti spontanei può essere ridotta. Ciò risulta essere in accordo con il fatto che il siero ricavato da donne diabetiche ben trattate è meno dannoso sugli embrioni di topi utilizzati in colture rispetto a quello ricavato da donne diabetiche il cui controllo è peggiore.⁶⁷

L'associazione tra diabete mellito materno e malformazioni congenite nel feto è chiaramente causale, comunque il meccanismo teratogeno che sta alla base di ciò rimane tuttora poco chiaro anche se sembra implicato un meccanismo pro-apoptotico.⁶⁸ La prevalenza e la tipologia delle malformazioni fetali è variabile e non è stata identificata una sindrome mal formativa tipica. Qualunque sia il meccanismo eziopatogenetico alla base delle anomalie, il prodotto del concepimento viene danneggiato dalle alterazioni biochimiche dell'ambiente in cui si sviluppa e le influenze genetiche, pur verosimili, hanno probabilmente rilevanza minore. In altre parole le influenze embriotossiche e fetotossiche nel diabete sono mediate soprattutto dall'alterata disponibilità di substrati, sia in senso qualitativo che quantitativo configurando la cosiddetta teratogenesi nutrizionale. Le prime

ipotesi hanno identificato l'iperglicemia materna quale unico determinante responsabile delle anomalie fetali, successivamente, pur riconoscendo il ruolo centrale dell'iperglicemia, si ammette una funzione anche per altri metaboliti, in particolare gli acidi grassi liberi, gli aminoacidi ed i corpi chetonici.⁶⁹⁻⁷²

E' ormai evidente che la gravidanza diabetica è associata ad una maggior frequenza di malformazioni fetali (2-4 volte la frequenza attesa nella popolazione generale, ossia 4.1-17.1%, nonostante la migliorata sorveglianza materno-fetale), che tale frequenza è direttamente proporzionale alla severità del diabete materno in termini di classe di White ed al controllo del diabete materno espresso dai valori di HbA1c, ed è in gran parte riconducibile alle modificazioni metaboliche dell'ambiente endouterino.⁶⁹⁻⁷¹

Nelle donne con diabete di tipo 1, anche un lieve aumento del valore di emoglobina glicosilata nelle fasi iniziali della gravidanza è associato ad un rischio aumentato di malformazioni fetali. In studi recenti è stato riscontrato che nel diabete tipo 1 con frequenti iperglicemie a digiuno il rischio di malformazioni congenite fetali è di 3-4 volte superiore rispetto a quello della popolazione generale. Le malformazioni più frequenti sono quelle cardiovascolari (53%) e muscoloscheletriche (27%).⁷³ In generale possiamo chiamare il vasto spettro delle malformazioni fetali legate al diabete insulino-dipendente con il termine di "embriopatia diabetica". Questa comprende errori morfogenetici che compaiono tra 3 e 7 settimane di sviluppo embrionario coincidenti con la fine della blastogenesi e con l'organogenesi. Entro questo spettro di embriopatie diabetiche, sono state descritte malformazioni cardiache e scheletriche ma anche a carico del sistema nervoso centrale, del massiccio facciale, dell'apparato uro-genitale, gastro-intestinale e malformazioni multiple.⁷¹⁻⁸³

Non è ancora chiaro se il diabete materno eserciti un effetto teratogeno aspecifico che si esprime in un rischio universalmente aumentato di tutte le malformazioni congenite o se piuttosto, la malattia determini un pattern di malformazioni congenite specifiche. Lo spettro delle embriopatie diabetiche è molto vasto e variabile; comunque numerosi studi sono stati concordi nel documentare un aumento di malformazioni specifiche soprattutto a carico del cuore, dell'apparato scheletrico (in particolar modo l'agenesia del sacro), dei reni e del sistema nervoso centrale.⁷³

Le malformazioni cardiache sono le più comuni malformazioni congenite del diabete insulino dipendente materno e sono significativamente più frequenti nel diabete rispetto alla popolazione generale. Alcuni autori hanno riportato una prevalenza di malformazioni cardiache di circa il 4%: 5 volte maggiore rispetto alla popolazione generale (0.8%).^{74,75} Il diabete mellito incrementa il rischio di agenesia-disgenesia del sacro o sindrome da regressione caudale. Quest'ultima è una complessa malformazione caratterizzata dall'assenza o dall'alterato sviluppo del sacro e del coccige, con o senza femore ipoplasico, dislocazione delle anche, difetti della tibia o del perone ed altre malformazioni agli arti inferiori. Spesso i feti affetti mostrano anche malformazioni associate a carico di altri organi. L'agenesia del sacro si verifica in circa lo 0.2-0.5% dei nati da madri diabetiche: rischio 200-400 volte maggiore rispetto alla popolazione generale.^{69;76,77} Per quanto riguarda le malformazioni a carico del sistema nervoso centrale, l'anencefalia rappresenta la malformazione più comune associata al diabete insulino dipendente (0.57%: 3 volte più alto rispetto al normale). I difetti del tubo neurale hanno un'incidenza dell'1.95%, rispetto allo 0.2% della popolazione generale.⁶⁹⁻⁷⁸

La malformazione che nel diabete colpisce più frequentemente l'apparato urinario è l'agenesia renale, unitamente alla duplicazione ureterale ed all'idronefrosi. L'ipospadia è la malformazione genitale più frequente. Anche le malformazioni addominali hanno una frequenza maggiore in questi feti: atresia ano-rettale, duodenale e del tratto inferiore dell'intestino, malrotazioni, volvolo e difetti della parete addominale. Malformazioni facciali sono state descritte solo in pochi casi, le più frequenti sono: schisi oro-facciali e anomalie delle orecchie o degli occhi. Infine, l'arteria ombelicale unica che si presenta nel 6.4% dei nati da madri diabetiche, cioè con una frequenza 5 volte superiore rispetto alla popolazione generale. Questa malformazione di grado lieve può essere associata ad altre anomalie strutturali maggiori, non ultima la possibilità di malformazioni multisistemiche.⁶⁸⁻⁸¹ In relazione alle malformazioni di grado lieve non esiste a tutt'oggi, un parere concorde anche se diversi autori propendono per negare una correlazione tra la severità del danno metabolico materno (HbA1c, vasculopatia, classe di White) ed il danno fetale.^{82,83}

L'American Diabetes Association ha definito "buon compenso glicemico" in gravidanza valori di emoglobina glicata (HbA1c) che non eccedano più di un punto percentuale (1%) i limiti di normalità (4-6%). Valori di emoglobina glicata inferiori o uguali a 7%

sembrerebbero essere associati a percentuali di malformazioni congenite e macrosomia non superiori rispetto a quelle della popolazione generale. La presenza di malformazioni congenite è legata (anche se in modo non significativo) al valore di HbA1c ma, comunque, l'incidenza di malformazioni nella popolazione di diabetica rimane superiore rispetto al normale anche quando vengono raggiunti valori di emoglobina glicata normali, o quasi. Lo stesso si può dire per quanto riguarda l'incidenza di macrosomia fetale. Comunque, diversi autori concordano con l'importanza dell'ottenere un buon compenso glicemico materno per ridurre il rischio di esiti fetali avversi, e sottolineano come il periodo critico entro cui questo si dovrebbe ottenere sia la 7 settimana di gravidanza, durante l'iniziale organogenesi.⁸⁴⁻⁸⁷ A conferma di questi reperti altri dati hanno evidenziato che valori di HbA1c periconcezionali superiori a 9% sarebbero associati ad un'elevata prevalenza di malformazioni fetali congenite e che pazienti i cui feti hanno avuto malformazioni congenite maggiori avevano valori di HbA1c medi significativamente più elevati durante il primo trimestre di gravidanza.⁸⁸

Tra gli altri effetti materno-fetali che la malattia diabetica esercita sulla gravidanza si ricordano anche polidramnios, preeclampsia, distacco di placenta, parto prematuro spontaneo, morte fetale endouterina ed alterazioni della crescita fetale.

Polidramnios: un modesto aumento del volume del liquido amniotico è presente in quasi tutte le gestanti diabetiche, come evidenzia anche il calcolo dell'indice del fluido amniotico (AFI) con l'ecografia. Gradi più evidenti di polidramnios, tali cioè da causare un certo disturbo soggettivo, sono presenti in circa il 5-10% dei casi (tale frequenza nelle donne non diabetiche è di circa 0.1% o anche meno).

Pre-eclampsia: la frequenza della pre-eclampsia è quasi triplicata nelle diabetiche rispetto alle non diabetiche (circa il 20% delle diabetiche rispetto al 3-10% della popolazione normale). La frequenza di tale patologia della gravidanza sembra non diminuire e la prognosi fetale rimane spesso sfavorevole.⁸⁹

Distacco di placenta normalmente inserita: il rischio per questa complicanza è aumentato nel diabete come conseguenza del polidramnios ma anche in relazione a pre-eclampsia e parto prematuro spontaneo.^{89,90}

Parto pretermine spontaneo: nel diabete, frequentemente si pone l'indicazione elettiva dell'espletamento del parto prima del termine, tuttavia, a prescindere da questo provvedimento, l'insorgenza di un parto pretermine spontaneo è più frequente rispetto alla popolazione generale forse in relazione all'insorgenza di poidramnos o di preeclampsia. E' stato riportato un incremento del 30% nel parto prematuro prima della 36 settimana per ogni incremento di HbA1c dell'1%. Un tentativo di arrestare il travaglio pretermine spontaneo mediante l'utilizzo di farmaci tocolitici è giustificato nel diabete per lo più prima delle 34 settimane per favorire la profilassi della sindrome da distress respiratorio neonatale con betametasona. Tuttavia, poiché la somministrazione di entrambe queste sostanze (beta-mimetici, steroidi) nella gravida diabetica comporta un rischioso ed additivo effetto iperglicemizzante, talvolta può essere eseguita solo in condizioni di monitoraggio intensivo rendendo quasi sempre necessario la scelta di tocolitici selettivi come gli antagonisti del recettore ossitocico in associazione con un aumento della terapia insulinica.^{90,91}

Morte fetale endouterina: la morte endouterina fetale è più frequente tra i feti di donne diabetiche insulino dipendenti rispetto ai feti di donne non diabetiche e studi recenti hanno confermato questa osservazione. Inoltre, mentre l'incidenza di morti endouterine dopo 29 settimane diminuisce sia nella popolazione diabetica che in quella normale, oltre la 32° settimana questa aumenta nella popolazione diabetica rispetto a quella non diabetica. L'epoca di maggior rischio per questa complicanza è oltre la 35° settimana, mentre nella gravidanza normale questo accade solo dopo la 41° settimana. Si è visto che anche l'etnia ed il concomitante status socio-economico sono due fattori potenzialmente influenti, dal momento che sono state riportate variazioni della mortalità perinatale tra donne diabetiche di etnie diverse. Anche l'obesità materna ha una correlazione positiva con la morte endouterina fetale. Con l'avvento della diagnostica ecografica molte anomalie congenite possono essere identificate ed un certo numero di feti va incontro ad aborto selettivo prima di raggiungere l'epoca di vitalità. Questo ha determinato una diminuzione di morti endouterine tra la popolazione di feti portatori di malformazioni congenite. Esiste una notevole variabilità nell'incidenza di malformazioni tra i feti di donne diabetiche che muoiono in utero e dal momento che la maggior parte di queste è compatibile con la vita non può essere valido l'assunto che una certa malformazione contribuisca all'evento morte fetale. Comunque, diversi studi concordano che la mortalità di questi feti è circa quattro-cinque volte superiore rispetto a quella della popolazione generale.⁸⁻¹¹

Anomalie della crescita fetale: sono macrosomia e restrizione della crescita fetale (tipica dei feti di madri diabetiche vasculopatiche). L'importanza che rivestono la crescita fetale e lo sviluppo del feto in utero per la salute dell'adulto è stata valutata da Barker, focalizzandosi in particolar modo sui rischi di malattia metabolica e patologia cardiovascolare.⁹⁵ Un basso peso alla nascita che include neonati piccoli per età gestazionale (SGA, small-for-gestational-age) o con effettiva insufficienza placentare e conseguente ritardo di crescita intrauterino, incrementa il rischio di ipertensione, diabete di tipo 2, intolleranza glucidica ed insulino resistenza nella vita adulta. Viceversa, per i feti con un elevato peso alla nascita (LGA, large-for-gestational-age), l'ipotesi di Pedersen suggerisce che potrebbero verificarsi gli stessi rischi.^{40,98-100} Un'analisi integrata di tutti questi risultati darebbe origine alla curva ad "U" che descrivere la relazione tra gli estremi di peso alla nascita ed anomalie metaboliche e cardiovascolari della vita adulta. Sembra che l'associazione tra ambiente intrauterino e malattie croniche nell'adulto abbia come minimo comune denominatore una anomala secrezione ed attività insulinica e la relazione tra insulino-resistenza e livelli di insulin growth factor (IGF) sarebbe cruciale nella programmazione della crescita fetale. Entrambi i possibili estremi della crescita fetale sono associati a complicazioni neonatali e a conseguenti alterazioni del metabolismo insulinico. Numerosi studi hanno dimostrato che la macrosomia fetale alla nascita è un riscontro comune nei nati da madri diabetiche, proponendo che in questi feti fossero i tessuti insulino-sensibili a mostrare la crescita più accelerata. I neonati da madri insulino-dipendenti hanno infatti uno spessore aumentato della plica cutanea, inoltre si è vista una specifica correlazione tra i valori medi della glicemia materna durante il terzo trimestre di gravidanza e la massa grassa del neonato. Questi feti avrebbero, inoltre, bicipiti e tricipiti più grandi, pliche cutanee sottoscapolari e sovraialiache più spesse, così come un diametro maggiore delle cellule adipose a livello dei glutei. Lampl e Jeanty. hanno osservato che tutti i feti di donne diabetiche manifestano una circonferenza addominale superiore alla norma a partire dalla 21 settimana che si associa ad una crescita variabile degli arti e della testa in funzione del controllo glico-metabolico materno e della classe di appartenenza.⁹⁵⁻

4a. La macrosomia fetale

La complicanza più frequente che si verifica nelle gravidanze di donne diabetiche è la macrosomia fetale. Come abbiamo già esposto, lo sviluppo del feto dipende dal passaggio di nutrienti materni attraverso la placenta. Alterazioni della glicemia materna, di aminoacidi e lipidi nel torrente circolatorio materno si ripercuotono sullo sviluppo del feto e sulla sua maturazione. La sostanza più importante per la crescita fetale è rappresentata dal glucosio che il feto non è in grado di sintetizzare autonomamente e che riceve dalla circolazione materna grazie ad un meccanismo di diffusione facilitata trans-placentare. Questa diffusione è regolata principalmente dalla concentrazione plasmatica del glucosio materno. Da qui si evince che il controllo metabolico materno sia il primo fattore in grado di condizionare la crescita fetale. L'emoglobina glicosilata, indice del compenso glicemico materno delle 6-8 settimane precedenti, è uno dei pochi strumenti oggi disponibili per la previsione della macrosomia fetale, sebbene la sua capacità predittiva sia debole.^{9,110} Alcuni dati riportano che differenze nei valori di HbA1c spiegherebbero variazioni del peso fetale inferiori al 20%, mentre i valori della glicemia postprandiale sarebbero in grado di prevedere meno del 30% dei feti macrosomi. Questa relazione relativamente debole potrebbe essere causata dall'utilizzo di markers glicemici inadeguati o da altri fattori attualmente sconosciuti. Prima di tutto, potrebbero essere coinvolte la variabilità dei valori glicemici e degli episodi di iperglicemia postprandiale che mal rappresentati dal valore di HbA1c. Questo significa che è necessario sviluppare metodi di valutazione del compenso glico-metabolico più accurati, studiando nuovi metodi di monitoraggio come i sistemi di misurazione continua della glicemia capillare. Quindi, verosimilmente, l'affermazione "macrosomia nonostante normoglicemia" lascia spazio all'affermazione "macrosomia a causa di una non-rilevata iperglicemia postprandiale". Inoltre, studi condotti sull'animale hanno evidenziato che valori glicemici materni persistentemente elevati non sarebbero in grado di stimolare uno stato di iperinsulinemia costante nel feto, mentre l'iperglicemia materna pulsatile riuscirebbe in questo scopo.¹¹² L'iperglicemia intermittente (solitamente con valori di HbA1c nella norma) potrebbe essere più determinante nel causare una crescita fetale accelerata rispetto all'iperglicemia cronica (solitamente associata ad elevati valori di HbA1c).¹¹³ L'utilizzo della HbA1C ad ogni epoca di gravidanza per la previsione della macrosomia è controverso e la maggior parte degli autori concordano per una sua scarsa predittività¹¹⁰.

Nelle gravidanze non complicate da diabete la sensibilità dell'insulina nei confronti dei substrati decresce con l'avanzare della gravidanza. Il risultato di ciò è una maggior disponibilità di nutrienti ed un aumento della concentrazione dell'insulina disponibile per lo sviluppo dell'unità feto-placentare. Disordini di diversa entità a carico dell'omeostasi del glucosio nella madre possono provocare un' aumentata stimolazione delle β -cellule fetali e, di conseguenza, un'iperinsulinemia che, a sua volta, è responsabile dell'ipersomatismo fetale grazie ad un accelerato utilizzo selettivo del glucosio e ad un suo accumulo a livello dei tessuti fetali insulino-sensibili. Tutto questo determina un aumento dell'incidenza di macrosomia. Al termine macrosomia corrispondono uno spettro di entità disomogenee. La maggior parte degli autori tuttavia parla di macrosomia fetale per indicare neonati di peso superiore ai 4000 gr. alla nascita, mentre si parla di LGA per i nati con peso superiore al 90° percentile. Un peso superiore ai 4000 gr. si riscontra in circa il 5.5-10% di tutti i neonati anche se l'incidenza è maggiore in quelli nati da madri diabetiche (10-50%) Altri autori utilizzano il termine macrosomia per indicare un peso alla nascita superiore ai 4500 gr. così come ad un peso alla nascita superiore di almeno 2,5 deviazioni standard rispetto alla media per età gestazionale od in altri sistemi classificativi al di sopra del 90° o 95° percentile per le curve di crescita specifiche.¹¹⁴⁻¹¹⁷

Tradizionalmente, in letteratura, sono riportati due tipi di macrosomia: il primo tipo è costituzionale, anche detto "macrosomia simmetrica". Questo si verifica in circa il 70% dei casi ed è il risultato di fattori genetici e, quindi, non implica un eccessivo rifornimento di nutrienti in utero. Il feto è grande ma normale e l'unico potenziale problema è l'aumentata incidenza di complicanze peri-partum. Il secondo tipo di macrosomia, invece, è il tipo asimmetrico che si verifica in circa il 30% dei casi. Questa forma di macrosomia è tipica dei feti di madri diabetiche, è caratterizzata da visceromegalia e deve essere considerata a tutti gli effetti un'entità patologica. Questo tipo di macrosomia è associato ad una circonferenza toracica ed addominale abnorme, relativamente maggiore rispetto alla circonferenza cranica. Questi bambini differiscono dalla popolazione generale anche per quanto riguarda le proporzioni del loro corpo. Il risultato è che la sproporzione tra la testa fetale e le spalle predispone a parti distocici (distocia di spalla in travaglio 0.2-2.8% nella popolazione generale può raggiungere il 3-9% nel diabete) e come conseguenza, ad un aumento dei parti cesarei od operativi. In aggiunta, è stato ipotizzato che la macrosomia asimmetrica potrebbe determinare conseguenze a lungo termine quali obesità, patologie cardiache coronariche, ipertensione e diabete di tipo 2.¹¹⁸⁻¹²⁴ Per tali motivi la classica

definizione di macrosomia basata sul peso e sull'età gestazionale non sarebbe forse appropriata per identificare la crescita sproporzionata del feto di madre diabetica. Proprio per questo motivo l'utilizzo di rapporti peso/lunghezza come, ad esempio, il "ponderal index" ed il "birth symmetric index" sarebbero strumenti più validi per descrivere la crescita fetale. Dal momento che il corpo umano è costituito da massa grassa e massa magra, è importante sottolineare che i fattori genetici rivestono un ruolo importante nella determinazione della massa magra. La massa magra può costituire fino all'85% circa del peso medio alla nascita, determinando circa l'80% della variabilità del peso stesso. L'ambiente intrauterino incide maggiormente sulla massa grassa che influenza il peso alla nascita solo per il 15% circa e la variazione del peso per il 20% circa. L'accumulo di tessuto adiposo si verifica probabilmente dalla 26-28 settimana fino al termine della gravidanza.¹²⁵⁻¹²⁹

Studi precedenti hanno provato a derivare formule che utilizzassero le misure ecografiche fetali in grado di stimare il peso fetale. Le formule più vecchie utilizzavano la misura della circonferenza cranica e del diametro biparietale fetale, della circonferenza addominale e del femore, sia singolarmente che in associazione. Alcuni autori dimostrarono differenze nella precisione di queste formule, tuttavia la maggior parte di essi concorda nell'affermare che, indipendentemente dalla formula usata, l'accuratezza nella stima del peso fetale decresce con l'aumento del peso stesso.¹³⁰⁻¹³² Di conseguenza, sono stati proposti markers ecografici alternativi per la valutazione della macrosomia fetale che sfruttano la presunta correlazione tra il deposito di tessuto adiposo sottocutaneo fetale ed il peso fetale. La misurazione tridimensionale ecografica del volume dell'arto superiore fetale, del torace fetale, dello spessore dei tessuti molli dell'addome e dell'omero, del diametro guancia-guancia, così come il rapporto tra tessuto sottocute/lunghezza del femore, hanno fornito strumenti variabilmente efficaci per la predizione della macrosomia fetale.¹³³⁻¹³⁹ I dati più recenti a nostra disposizione derivano da una review sistematica che evidenzia come non ci sia differenza sostanziale nell'accuratezza della stima del peso fetale mediante biometria fetale ecografica con applicazione di diverse formule matematiche e la semplice misura della circonferenza addominale, tuttavia un test positivo sembra più accurato per la predizione della macrosomia di quanto un test negativo permetta di escluderla.¹³² Attualmente, nessuna singola misurazione ecografica sembra essere in grado di distinguere tra feti LGA (Large-for-Gestational-Age) e AGA (appropriate-for-Gestational-Age) nella popolazione diabetica. Il reperto di una circonferenza addominale al di sopra del 90°

percentile durante il secondo o il terzo trimestre è associata positivamente alla macrosomia fetale, ma questa misura presenta un alto tasso di falsi positivi ed in minor misura negativi.

141

La stima del peso fetale nei nati da madri diabetiche necessita di ulteriori considerazioni. A causa della sproporzione tra massa magra e massa grassa nel diabete e, dal momento che il tessuto adiposo è meno denso dei tessuti che costituiscono la massa magra, le equazioni usate per il calcolo del peso, e che sono state derivate dalla popolazione normale, possono teoricamente sovrastimare il peso fetale alla nascita se applicate alla popolazione diabetica.¹⁴² Tuttavia, clinicamente non sono state riscontrate differenze significative nella percentuale di errore assoluto nella stima del peso alla nascita tra la popolazione di feti nati da madri diabetiche e quella normale.

L'inizio del trend che esita nella macrosomia fetale origina probabilmente nel secondo trimestre, dalla 18 settimana circa, raggiungendo il suo massimo nel terzo trimestre tra le 30 e le 38 settimane.¹⁴³ Questo dato suggerisce che il target della crescita fetale possa essere determinato in un'epoca molto iniziale della gravidanza, probabilmente anche prima del secondo trimestre e che probabilmente entrano in gioco anche fattori pregravidici o legati alla gravidanza iniziale come l'obesità materna od elevati valori glicemici in epoca periconcezionale.

Evidenze precedenti hanno riportato risultati non conclusivi relativamente all'andamento della crescita fetale nella popolazione diabetica nel primo trimestre di gravidanza e del suo ipotetico ritardo di crescita fetale precoce. La gravità di questo fenomeno è stata correlata con lo sviluppo di malformazioni e complicanze metaboliche. Ed è stato osservato inoltre, che non sembrerebbe esistere correlazione con i valori di HbA1c a qualsiasi epoca della gravidanza.¹⁴⁴ L'andamento della crescita endouterina di feti AGA o LGA di madri diabetiche potrebbe seguire così una curva bifasica, sostanzialmente diversa dal normale con flessione iniziale e successiva accelerazione con un flesso della curva globale intorno alle 15-20 settimane e differenti trend per ciascuna delle misure analizzate (incremento velocità di crescita: CA a 23 settimane; BPD a 28 settimane). Quindi questo fenomeno della popolazione diabetica che caratterizza il primo trimestre di gravidanza, potrebbe essere esteso anche al secondo trimestre, coinvolgendo sia la crescita della testa che quella

dell'addome e la seconda fase della crescita bifasica è caratterizzata da un recupero fino ad arrivare ad un eccesso di crescita.¹⁴⁵

La macrosomia nelle gravidanze diabetiche è associata ad una ipertrofia delle cellule β del pancreas fetale con conseguente iperinsulinismo. L'insulina può essere ritenuta "l'ormone di crescita" maggiormente anabolizzante nel feto. Come conseguenza è in grado di far aumentare la dimensione delle cellule attraverso la stimolazione della sintesi proteica e della lipogenesi l'aumento del recupero di glucosio, l'ossidazione, ed il suo accumulo sottoforma di glicogeno. La condizione intrauterina di iperinsulinismo che si verifica in questi feti promuove effetti metabolici che si riflettono in un aumento del grasso corporeo, del contenuto epatico di glicogeno e in un aumento complessivo delle dimensioni del corpo. Le cellule beta del pancreas fetale iniziano a svilupparsi tra la 16 e la 34 settimana di gravidanza. Questo sviluppo può spiegare il perché la crescita fetale sembra avere un carattere bifasico in questi feti. L'assenza di cellule β ipertrofiche prima della metà della gravidanza, nella popolazione diabetica, deriva dal fatto che le isole pancreatiche isolate da feti umani prima delle 12-16 settimane non sono in grado di rispondere con aumenti significativi della secrezione insulinica durante l'incubazione con medium ricchi di glucosio. La maturità di questo processo inizia tra le 15 e le 20 settimane. Sebbene la "early fetal growth delay" possa essere dovuta ad un effetto tossico proprio del glucosio, questo potrebbe essere il risultato di altri metaboliti tipici dello stato diabetico. L'accelerazione della crescita fetale coinciderebbe nel tempo con lo sviluppo dell'iperinsulinismo fetale

5. LO STUDIO ECOGRAFICO NELLA GRAVIDANZA COMPLICATA DA DIABETE

L'ecografia fetale ha creato una rivoluzione nel campo dell'ostetricia. Prima del suo esordio i medici e le famiglie avevano scarsissime informazioni relative alla salute ed alla crescita fetale. All'inizio degli anni '70 è stata introdotta l'ecografia bidimensionale (2D) statica che si è sviluppata all'inizio degli anni '80 con l'ecografia dinamica B-mode ed alla fine negli ultimi anni '80 con la metodica tri-quadrimensionale (3D-4D) (Tabella 1 e 2).¹⁴⁶⁻¹⁴⁸ Lo studio della gravida diabetica mediante ecografia è stato in parte esposto nei precedenti capitoli. Oggetto di questa sezione è principalmente l'esposizione dei nuovi strumenti diagnostici ecografici per l'approccio alla gravidanza diabetica inclusa la diagnosi di macrosomia mediante ecografia 2D e 3D e lo studio Doppler della perfusione fetale e materna nelle gravidanze complicate da diabete mellito.

5a. Ecografia 2D

Come esposto nei precedenti capitoli l'utilizzo dell'ecografia si è dimostrato particolarmente utile in alcune popolazioni di gravide a rischio come quella diabetica. Il fondamento per l'impiego dell'ecografia nelle donne gravide diabetiche è la corretta datazione della gravidanza, l'identificazione precoce di anomalie cromosomiche e malformazioni fetali congenite ed il riconoscimento di una crescita fetale che devia dai range di normalità. La diagnosi prenatale di macrosomia fetale nelle gravidanze diabetiche è un dato sicuramente rilevante dal punto di vista clinico. I feti di madri diabetiche sono esposti ad un rischio maggiore di traumi perinatali non solo per la loro predisposizione alla macrosomia ma anche per la crescita sproporzionata del tronco rispetto alla testa. Distocia di spalla, danni al plesso brachiale, e fratture clavicolari sono complicazioni che si possono associare alla macrosomia fetale e la loro frequenza aumenta con l'aumentare del peso alla nascita. Purtroppo, nonostante gli sforzi che sono stati fatti fino ad oggi, la diagnosi di macrosomia rimane ancora profondamente inaccurata.¹³² Possiamo affermare che, in generale, la sensibilità della stima ecografica di un peso fetale superiore al 90° percentile varia dal 70 al 96% con una specificità del 77-100%. La sensibilità nel diagnosticare un peso fetale che superi i 4000 g varia dal 33 all'83% e la specificità dal 77 al 98%.¹⁴⁹⁻¹⁵⁴ L'ampia variabilità di questi range è riconducibile in parte alla intrinseca operatore-

dipendenza della metodica ecografica ed in parte all'eterogeneità dell'outcome analizzato in termini di peso fetale alla nascita.

Ai fini di ottenere ecograficamente una stima del peso fetale (EFW, Estimated Fetal Weight), sono state proposte numerose misurazioni del feto, le quali, a loro volta sono state utilizzate per la formulazione di modelli matematici in grado di mettere in relazione le misure del feto stesso con il suo peso. La definizione di feto LGA (ed allo stesso modo SGA) è semplicemente l'espressione statistica delle deviazioni delle misure osservate in questo feto dalla media attesa per epoca gestazionale. Attualmente esistono diverse formule matematiche per la stima del peso fetale ma non esiste un'uniformità nell'accuratezza con cui vengono rilevate le misurazioni. Come già discusso, quasi tutte queste formule, applicate al feto macrosoma, presentano il rischio di una sovrastima del peso fetale reale.¹⁴⁹⁻¹⁵⁴ Questo dato potrebbe esser spiegato dalla anomala simmetria corporea del neonato di madre diabetica affetto da macrosomia a seguito dei suoi peculiari depositi adiposi. Le formule di Shepherd (BPD + AC) e di Hadlock (AC + LF) sono tra le più utilizzate per la stima del peso fetale.^{155,156} Studi precedenti hanno valutato l'efficacia, espressa in termini di sensibilità e specificità, per la diagnosi prenatale di macrosomia nel terzo trimestre confrontando diverse formule. I risultati sono controversi data l'eterogeneità degli outcomes di ciascuno studio e le conclusioni sono esposte in Tabella 3.

132

Infine, altre misure ecografiche bidimensionali sono state studiate per migliorare la diagnosi di macrosomia fetale: studio dei tessuti sottocutanei, del diametro delle spalle e degli accumuli di grasso a livello del corpo e del volto. Alcuni esempi sono il diametro tra le guance ed il rapporto tra lo spessore del pannicolo adiposo della coscia e la lunghezza del femore. Tutte questi metodi diagnostici hanno destato iniziali entusiasmi ma successivamente non hanno trovato spazio nella pratica clinica.¹⁵⁷⁻¹⁶¹ Comunque, la diagnosi di macrosomia nel terzo trimestre ha certamente una sostanziale rilevanza clinica permettendo ottimizzare il timing e la via del parto, tuttavia non permette di instaurare misure preventive o terapeutiche per ridurre l'incidenza di questa complicanza, dal momento che la identifica quando già si è verificata.

In sintesi, precedenti studi prenatali ecografici hanno riportato che nel PGDM materno la crescita fetale nel secondo trimestre è normale mentre nel terzo trimestere è aumentata.

^{101,149} Una serie di altri studi prenatali ha focalizzato sulla capacità di prevedere feti macrosomi e LGA nel terzo trimestre di gravidanza con diverse tecniche ecografiche e relative formule matematiche. Le principali variabili biometriche analizzate sono state la circonferenza addominale, lo spessore del tessuto sottocutaneo ed il volume-lunghezza degli arti.^{132,149-154,157-165} Comunque, l'utilizzo di queste informazioni per la scelta della condotta clinica è controverso ed è eventualmente limitato alla gestione del timing e della via del parto, in quanto la diagnosi è generalmente tardiva e non esiste più la possibilità di instaurare provvedimenti preventivi.

Recenti evidenze sullo studio ecografico prospettico della massa grassa e della massa magra in gravidanze con diabete gestazionale permettono di ipotizzare l'utilizzo degli ultrasuoni per modificare la gestione clinica di questi pazienti ed eventualmente il loro trattamento. Tale approccio permetterebbe di identificare anticipatamente le gravidanze ad alto rischio di evolvere in macrosomia secondaria a scompenso glico-metabolico, permettendo di studiare eventuali approcci terapeutici e superando per la prima volta la mera identificazione della patologia in epoca perinatale.¹⁶²⁻¹⁶⁵

5b. Ecografia 3D

L'ecografia 3D è un relativamente nuovo strumento nella valutazione globale della gravidanza e fornisce ai medici e ai familiari che chiedono informazioni, accurati dettagli sullo sviluppo del feto. Alcuni studi suggeriscono che l'ecografia 3D sia in grado di fornire informazioni aggiuntive se paragonata all'ecografia 2D nella valutazione delle anomalie fatali. Attualmente i dati 3D sono acquisiti come un gran numero di scansioni bidimensionali consecutive ottenute attraverso il movimento automatizzato della sonda ecografica, un altro tipo di tecnologia di costo maggiore e minor diffusione permette l'acquisizione istantanea del volume mediante l'utilizzo di sonde a matrice. Nell'ecografia 2D un singolo piano è acquisito attraverso il trasduttore mentre nell'ecografia 3D siamo in grado di acquisire un cubo o un volume di dati utilizzando innumerevoli tecniche, le più precise delle quali utilizzano una sonda per l'acquisizione dei volumi che funziona come un trasduttore che scorre meccanicamente. I dati sui volumi vengono ottenuti rapidamente e valutati al momento dell'esame o quando la paziente lascia la clinica. Per ottenere immagini 3D distinte, le scansioni originali dovrebbero avere una buona qualità e per questo motivo è preferibile utilizzare la più alta frequenza possibile, pur rispettando la

capacità di penetrazione del raggio degli ultrasuoni e le linee guida internazionali relative ai limiti per indice termico e meccanico. L'ecografia 3D così come la tecnica bidimensionale (2D) non è priva di artefatti. Per ottimizzare l'immagine dovremmo tenere in considerazione il movimento dell'oggetto, il side-lobe effect, lo spessore della scansione, il focus dinamico, la correlazione tra le immagini e la direzione del raggio degli ultrasuoni. Per acquisire un volume 3D bastano pochi secondi ma sia i movimenti fetali che gli atti respiratori materni possono produrre immagini distorte. Per questo motivo l'acquisizione dei volumi dovrebbe essere fatta in momenti in cui il feto è tranquillo e dovrebbe essere ripetuta se il feto o la madre si muovono durante l'acquisizione stessa. Il side-lobe-effect, che è la creazione di immagini artificiali a sinistra o a destra di un oggetto fortemente riflettente, dev'essere evitato spostando la direzione del raggio degli ultrasuoni al fine di diminuire gli artefatti 3D sulla superficie delle immagini riprodotte. Lo spessore della scansione dev'essere ridotto per ottenere immagini 3D di buona qualità, mentre deve essere aumentato per migliorare la qualità dei singoli tomogrammi nell'ecografia 2D convenzionale. Inoltre, bisogna fare attenzione acquisendo i volumi attraverso appropriate angolazioni per l'analisi di ciascun distretto corporeo. In particolare la regione d'interesse (ROI, Region Of Interest) dovrebbe essere posta nella parte superiore del piano di acquisizione, vicino e quasi perpendicolarmente al raggio degli ultrasuoni per evitare artefatti tra cui in primis la caduta del segnale che si realizza come cono d'ombra dietro strutture ecogene. Un'immagine 2D viene espressa come insieme di elementi grafici (pixel) aventi una luminosità che corrisponde all'ampiezza dell'eco di ritorno. Al contrario, un'immagine 3D viene espressa per mezzo di elementi volumetrici (voxels) la cui luminosità è derivata da quella dei pixel nelle scansioni. Questo processo non è puramente un riarrangiamento ma implica anche un'interpolazione e un miglioramento della qualità dei dati grazie al filtro ed alla posizione del ROI. La distanza tra tomogrammi vicini aumenta con la profondità nella metodica di scansione angolare che è quella più comunemente utilizzata. Si utilizzano filtri per eliminare il rumore e le irregolarità delle superfici delle immagini riprodotte che possono essere causati dai deboli eco nel liquido amniotico che circonda il ROI o da strutture al di fuori del ROI stesso. Il ROI generalmente è collocato manualmente rimuovendo la parete uterina anteriore e la placenta per visualizzare il feto o rimuovendo gli arti davanti alla testa per esaminare la faccia. Nell'ecografia 2D abbiamo a disposizione un solo piano per ricavare informazioni dall'immagine, mentre nel 3D un cubo o un volume di dati possono essere visti come piani singoli o multipli o in combinazione con un'immagine riprodotta, che raduna informazioni

dell'intero volume in una singola immagine. Infatti, dopo che sono stati acquisiti i dati del volume, esso è mostrato in tre immagini planari che corrispondono ai piani: longitudinale, trasverso e coronale. Ruotando e facendo scorrere ogni piano del volume nei tre assi spaziali possiamo analizzare visioni del feto longitudinali, trasversali e coronali, contemporaneamente in diverse sezioni. In questo modo è possibile migliorare l'identificazione di strutture e la comprensione dell'anatomia e della patologia. Inoltre, vedendo immagini multiplanari è possibile raggiungere piani e visuali che non si potrebbero ottenere con il 2D a causa della posizione del feto o di restrizioni dovute all'anatomia. Tre immagini sono in relazione tra loro per mezzo di un cursore che mostra il loro punto d'intersezione comune. Rispetto a quanto possibile con una singola immagine planare, nelle immagini che vengono riprodotte in 3D possiamo evidenziare, all'interno di un volume, determinate caratteristiche per comprendere più chiaramente l'anatomia. Svitati algoritmi di opacità, trasparenza e profondità possono essere selezionati dall'operatore al fine di ottimizzare l'immagine. Numerosi preset devono essere usati per visualizzare strutture diverse come, ad esempio, lo scheletro, la superficie o i visceri. In particolare per ottimizzare la riproduzione della superficie possiamo utilizzare il ligh mode che rappresenta la superficie come se fosse illuminata da una fonte di luce, o il surface smooth a diversi livelli di opacità. Il transparency mode trattiene gli eco più forti e rimuove gli altri, eliminando i tessuti molli e facendo risaltare la superficie. Il maximum mode elimina gli eco che originano dai tessuti molli e mostra gli eco più forti come quelli delle ossa e dello scheletro. Una relativamente nuova tecnologia chiamata ecografia a quattro dimensioni (4D), è in grado di acquisire fino a 16 immagini al secondo. Questo ci permette di vedere i movimenti fetali e apre la possibilità di valutarli ed utilizzare i dati acquisiti per studi funzionali (Figura 1). Possiamo concludere che l'ecografia 3D permette all'operatore di ottimizzare le immagini e, verosimilmente, di migliorare la capacità nel diagnosticare anomalie fetali, di effettuare nuove misure lavorando sui volumi una volta che la paziente ha lasciato la clinica, sia utilizzando l'ecografo che un computer remoto. Nel primo trimestre di gravidanza l'ecografia 3D è uno strumento eccellente per la valutazione approfondita dell'embrione/feto. I dati circa il volume possono essere ottenuti per via transvaginale all'inizio del primo trimestre e successivamente, alla fine del primo trimestre, per via addominale. Utilizzando la visualizzazione multiplanare è possibile ottenere le visualizzazioni standard anche se l'acquisizione del volume è fatta per via transvaginale in un piano obliquo. All'inizio del primo trimestre di gravidanza, grazie all'ecografia 3D, possono essere visualizzate molte più strutture anatomiche rispetto a quanto è possibile

fare con l'ecografia 2D. In questo modo è possibile attuare una sorveglianza fetale più accurata, soprattutto in quei casi in cui ci sia un rischio aumentato di cromosomopatie o anomalie strutturali. L'anatomia fetale può essere indagata e ogni misura che viene fatta in 2D può essere riprodotta accuratamente anche in 3D, inclusa la misurazione dello spessore della translucenza nucale. Anche la durata dell'esame potrebbe essere ridotta grazie al tempo di acquisizione dei volumi che è molto rapido e facendo le misure una volta che la paziente ha lasciato la clinica. La valutazione della morfologia fetale nel primo trimestre è fattibile usando la tecnologia 3D che è in grado di fornire visioni che con l'ecografia 2D non sarebbero ottenibili facilmente: è possibile acquisire il volume dell'intero utero in un unico blocco che viene catturato in pochi secondi per via transaddominale e, in un secondo tempo, lavorare sui dati registrati facendo le misurazioni e analizzando le strutture anatomiche. Questa è stata la metodica di acquisizione che abbiamo utilizzato per il nostro studio. I vantaggi e le possibili applicazioni dell'ecografia 3D in ostetricia sono sintetizzati nella Tabella 1. Di certo la ricerca in questo settore è una delle applicazioni più interessanti dell'ecografia 3D per il prossimo futuro. L'embriologia delle prime 13 settimane della vita fetale può essere esaminata con l'ecografia 3D sia per via transaddominale, sia per via transvaginale. Sono necessari ulteriori studi per meglio comprendere le possibili applicazioni dell'ecografia 3D in questo promettente settore. Sebbene attualmente il gold standard per la valutazione della morfologia fetale sia ancora l'ecografia 2D, la 3D potrebbe essere utile per migliorare la detection rate delle anomalie fetali. In particolare le anomalie della faccia, della testa, del sistema nervoso centrale, del cuore, del torace, dell'addome e della pelvi, dello scheletro e delle estremità del feto, sono state indagate da diversi autori utilizzando la tecnica ecografica 3D e dimostrando risultati contrastanti. La stima del volume fetale nei pressi del termine della gravidanza sarebbe utile per la gestione clinica ma, purtroppo, attualmente, non è possibile acquisire un unico blocco dell'intero feto a quest'epoca di gravidanza. Per questo motivo sono stati fatti diversi tentativi per calcolare una stima del peso fetale utilizzando l'ecografia 3D ed, in particolare, i volumi degli arti e dell'addome fetali. La qualità delle immagini 3D, generalmente, non è così buona come quella delle immagini 2D ed i limiti dell'ecografia 3D in ostetricia sono sintetizzati nella Tabella 2. L'immagine multiplanare varia a seconda della risoluzione che è migliore nel piano di acquisizione, moderata nel piano perpendicolare e scarsa nel piano parallelo al raggio degli ultrasuoni (Figura 1). La qualità del blocco 3D, di solito, è in relazione con la qualità dell'acquisizione del piano 2D, quindi, quando si richiede la massima risoluzione, è molto importante acquisire il volume nel piano corretto. In

aggiunta, una visione 3D di alta qualità della superficie fetale, richiede una quantità sufficiente di liquido amniotico tra la parete uterina e la parte fetale in esame al fine di poterne differenziare chiaramente le strutture. Da qui si evince che non è possibile ottenere delle immagini di buona qualità in tutte le pazienti perchè la visualizzazione dipende dall'epoca gestazionale e dalla quantità di liquido amniotico adiacente alla regione di interesse, così come dalla posizione fetale. E' importante dire che la strumentazione non è facilmente disponibile ed il suo utilizzo richiede un addestramento e tempo aggiuntivo per la valutazione, l'analisi e la registrazione del volume per ricavare poi immagini ottimali. Attualmente si stanno conducendo studi clinici per supportare l'utilizzo dell'ecografia 3D nella pratica clinica. L'interpretazione delle immagini riprodotte deve essere fatta con cautela. Sono necessarie altre ricerche cliniche per definire le visualizzazioni standard e i protocolli per giungere a corrette diagnosi così come le curve di normalità delle misure volumetriche. Non è verosimile che l'ecografia 3D possa diminuire il valore delle capacità dell'uomo come operatore in ecografia. Questa nuova e promettente tecnica ecografica dovrebbe essere fornita ad ecografisti già addestrati e certificati nell'ecografia 2D per migliorare la capacità diagnostica prenatale.^{166,167}

L'utilità dell'impiego dell'ecografia tridimensionale allo scopo di diagnosticare la macrosomia fetale è molto controversa. Alcuni studi sostengono che le informazioni ottenute con questo tipo di ecografia sono quasi sempre inferiori a quelle dell'ecografia bidimensionale convenzionale, altri autori sostengono l'opposto.¹⁵⁷ Mediante la misurazione di volumi fetali alcuni autori hanno cercato di stimare il peso fetale. Alcuni gruppi di ricerca valutarono gli arti fetali sia superiori che inferiori dimostrando risultati promettenti. Successivamente è stato valutato il volume frazionato degli arti nel tentativo di migliorare la stima del peso. Anche queste recenti formule derivate dalle nuove misure sono risultate promettenti con un errore inferiore al 5% in quasi circa il 70% delle gravidanze prossime al termine.¹⁶⁸⁻¹⁷⁴ Comunque nessuna di queste tecniche è entrata nella pratica clinica perchè difficilmente applicabile su larga scala in mani non esperte. La ricerca futura dovrà verificare ulteriormente queste evidenze.

5c. Ecografia Doppler

La finalità degli studi Doppler dell'arteria ombelicale e delle arterie uterine nella gravidanza complicata da diabete è di determinare se l'impedenza al flusso è correlata al

controllo glicemico materno e se ci sia una impedenza al flusso aumentata in pazienti con nefropatia e vasculopatia. Inoltre risulta utile comprendere se tali flussimetrie possono costituire utili fattori prognostici per identificare quelle gravidanze che svilupperanno pre-eclampsia e/o restrizione della crescita fetale così come accade nella gravidanza normale. In risposta al primo quesito quasi tutti gli studi sembrano concordare che non vi sia una significativa modificazione della flussimetria ombelicale ed uterina in gravidanze non complicate di pazienti diabetiche.¹⁷⁵⁻¹⁸² Tuttavia sembra che questo non sia confermato nelle gravidanze complicate da nefropatia-vasculopatia per le quali alcuni autori hanno riportato anomalie dei Doppler uterini e ombelicali.^{29,176,183} Comunque l'efficacia dello screening per le complicanze correlate ad insufficienza placentare nel diabete mellito presenta una performance simile a quella della popolazione normale.¹⁸⁴

Il diabete mellito presenta un incrementato rischio di morte fetale endouterina e dati da studi di cordocentesi hanno dimostrato una associazione tra iperglicemia materna ed acidemia fetale. La finalità dello studio Doppler dell'arteria cerebrale media è quello di valutare se il feto di madre diabetica presenti le stesse caratteristiche flussimetriche di redistribuzione del circolo osservate nell'ipossia fetale secondaria ad insufficienza placentare. Uno studio condotto da Salvesen et al ha dimostrato che in feti acidemici di madre diabetica non sviluppa redistribuzione nel distretto della cerebrale media.¹⁷⁷

E' noto che nonostante il buon controllo glicemico, il cuore del neonato di madre diabetica ha un rischio di cardiomiopatia ipertrofica. Questa condizione è caratterizzata da ispessimento del setto interventricolare, delle pareti ventricolari e da alterazioni della funzione sistolica e diastolica che può portare ad insufficienza cardiaca congestizia. Sebbene questa condizione sia reversibile e generalmente si risolve entro il primo anno di vita è verosimile che questo evento prenatale possa predisporre ad anomalie della funzione cardiaca nell'età adulta.¹⁸⁵ Esistono evidenze scientifiche che hanno validato la misura della funzione cardiaca fetale per mezzo di ecografia 2D,3D-4D e Doppler nel feto normale ed in quello di madre diabetica.¹⁸⁶⁻¹⁹⁰ Tuttavia i dati relativi allo studio della funzione cardiaca nel primo trimestre di gravidanza sono scarsi, in particolare nella gravidanza complicata da diabete mellito.¹⁹¹ Esistono alcune evidenze che l'iperglicemia nelle fasi precoci della gravidanza possa alterare la funzione cardiaca già nel primo trimestre, ponendo le basi la cardiomiopatia diabetica neonatale.^{192,193}

Infine ci sono dati recenti che riferiscono incremento delle resistenze a livello del dotto venoso nelle gravidanze complicate da diatete mellito e questo dato sembrerebbe correlabile ad un'alterata funzione cardiaca di questi feti.^{194, 195}

Acquisizione rapida dei dati e standardizzazione dell'esame ecografico.
Migliore identificazione e valutazione di anomalie fetali attraverso la rappresentazione spaziale delle superfici.
Chiarimento delle relazioni spaziali tra le strutture visualizzate.
Ottenimento di orientamenti e piani che non sono ottenibili con l'ecografia 2D a causa della posizione del feto.
Ottenimento di misurazioni lineari e volumetriche (peso fetale, organi, placenta, liquido amniotico).
Archiviazione di immagini su un disco per condivisione di informazioni, trasmissione e consultazione.
Utilizzo delle immagini per educazione ed addestramento degli ecografisti.
Miglioramento della comprensione dell'anatomia fetale da parte delle famiglie.
Miglioramento potenziale del legame materno/paterno con il feto.

Tabella 1. Vantaggi dell'ecografia 3D in ostetricia.

Necessità di un ecografista esperto per ottimizzare le immagini.
L'obesità e l'oligoidramnios non permettono di ottenere immagini di buona qualità.
Necessità di ripetere l'esame se il feto si muove.
Artefatti possono rendere le immagini poco chiare.
La posizione del feto può impedire di ottenere immagini ottimali.
Necessità di più tempo per processare le immagini ai fini di ottenere immagini ottimali.
Attrezzatura costosa.
La riproducibilità di misure volumetriche è peggiore di quella in misure bidimensionali.
La riproducibilità delle misure e delle scansioni è scarsa per operatori senza adeguato training
Non è possibile ottenere i risultati desiderati in tutte le pazienti.

Tabella 2. Limiti dell'ecografia 3D in ostetricia.

Formula per calcolare il peso fetale	Soglia del Test (EFW)	Soglia standard (peso alla nascita)	N° studi	N° totale dei partecipanti allo studio	Pooled LR+ (95% CI)	Pooled LR- (95% CI)
Hadlock con AC e FL	4000 g	4000 g	6	1289	5.7 (4.3-7.6)	0.48 (0.38-0.60)
	4500 g	4500 g	1	1213	33 (12-90)	0.57 (0.25-1.30)
Hadlock con HC e AC	4000 g	4000 g	2	235	4.6 (1-29)	0.14 (0.01-1)
Hadlock con FL e AD	3800 g	3800 g	1	221	6.5 (3.4-12)	0.27 (0.13-0.56)
Hadlock con BPD, AC e FL	4000 g	4000 g	4	1040	8.5 (5.9-12)	0.42 (0.30-0.58)
	4500 g	4500 g	1	661	29 (11-72)	0.43 (0.19-0.99)
Hadlock con AC, FL e HC	4000 g	4000 g	2	647	29 (14-16)	0.51 (0.31-0.85)
	> 90%	> 90%	1	406	5.1 (3.0-8.7)	0.55 (0.36-0.86)
Hadlock con AC, FL, HC e BPD	4000 g	4000 g	1	149	13 (4-44)	0.57 (0.29-1)
	> 90%	> 90%	2	147	9.3 (3.7-24)	0.37 (0.14-0.93)
Shepard con BPD e AC	4000 g	4000 g	4	839	8.3 (5.2-13)	0.55 (0.33-0.91)
	> 90th centile	> 90th centile	6	1472	7.0 (2.7-18)	0.43 (0.27-0.68)
	> 1.5 SD	> 90%	1	595	19 (10-35)	0.28 (0.15-0.51)
Birnholz con BPD e AD	4000 g	4000 g	1	1031	6.5 (5.0-8.5)	0.39 (0.31-0.49)
Chauhan con AC e FL	4000 g	4000 g	1	602	5.2 (3.3-8.3)	0.42 (0.26-0.68)
Combs con AC, FL e HC	4000 g	4000 g	1	149	9.5 (3.6-25)	0.48 (0.24-0.96)
Hansmann con BPD a TTD	4000 g	4000 g	1	150	2.6 (1-12)	0.93 (0.51-1)
Hsieh con BPD e AC	4000 g	4000 g	1	1054	32 (15-69)	0.51 (0.28-0.93)
Rossavik con BPD, OFD, ALD e FL	4000 g	4000 g	1	498	22 (10-46)	0.34 (0.18-0.67)
	> 90%	> 90%	1	55	7.6 (1.9-29)	0.37 (0.14-0.98)
Tamura con AC a BPD	4000 g	4000 g	1	70	3.6 (1.1-12)	0.58 (0.20-1)
Vintzileo con AC e BPD	4000 g	4000 g	1	149	3.0 (1.5-6.0)	0.40 (0.18-0.90)
Warsof con BPD e AC	4000 g	4000 g	1	70	9.7 (0.81-115)	0.85 (0.34-1)
	> 90%	> 90%	1	55	13 (1.5-111)	0.64 (0.27-1)

Tabella 3. Likelihood ratios per prevedere la macrosomia fetale utilizzando diverse formule per la stima ecografica del peso fetale alla nascita (EFW). Riprodotto con modifiche da Coomarasamy A et al.¹³² Nota: Le LR indicano di quanto il risultato di un determinato test sia in grado di aumentare o diminuire la probabilità di avere la malattia. Più è elevato LR di un test patologico, maggiore è il significato del test stesso. Al contrario, minore è l'LR di un test non patologico, maggiore è il significato del test stesso. Un LR > 10 o < 0.1 è considerato come test "molto utile", mentre un LR compreso fra 5-10 o 0.1-0.2 è considerato "moderatamente utile", e un LR compreso tra 2-5 o 0.5-0.2 è considerato "di utilità discutibile". Un LR compreso tra 1-2 o 0.5-1 è considerato "poco utile" e un LR =1 come "inutile".

6. IL PRIMO TRIMESTRE

Nel nostro centro viene offerta tutte le pazienti gravide l'ecografia delle 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane gestazionali per la misura della translucenza nucale fetale combinata ai dosaggi sierici materni di free-BhCG e PAPP-A. Questo test si è dimostrato efficace per lo screening precoce delle anomalie cromosomiche e strutturali maggiori ed ha affermato l'anticipazione della diagnosi prenatale dal secondo al primo trimestre.¹⁹⁷⁻¹⁹⁹

Esistono studi precedenti che hanno valutato la misura della translucenza nucale e dei dosaggi sierici materni di free-BhCG e PAPP-A nella gravidanza fisiologica ed in quella complicata da diabete mellito, con risultati talora contrastanti.²⁰⁰⁻²⁰⁶ Inoltre esistono studi recenti che hanno correlato questi parametri con il peso alla nascita nella gravidanza normale, ma esistono meno evidenze per le gravidanze complicate da diabete.²⁰⁷⁻²⁰⁹

L'indice di performance miocardica è stato descritto nell'adulto come indicatore riproducibile ed accurato di funzione cardiaca sistolica e diastolica e successivamente è stato validato per il suo utilizzo nel feto.²¹⁰⁻²¹⁷: Ci sono alcune evidenze che il cuore fetale presenti una funzione anomala nel diabete mellito, evidenziabile già dal primo trimestre di gravidanza.^{191,192,217-219} Non esistono invece studi di cui siamo a conoscenza che abbiano valutato la flussimetria del dotto venoso nel primo trimestre in pazienti diabetiche, mentre esistono due studi che lo hanno valutato nel secondo e terzo trimestre come predittore di outcome neonatale^{194,195}

Precedenti studi hanno mostrato risultati contraddittori a riguardo del ritardo di crescita fetale precoce ipotizzato per i feti della popolazione diabetica. Alcuni autori hanno dimostrato che i feti nati da madri diabetiche presentano un deficit di crescita dimostrato da riduzione del crown rump length (CRL) per epoca gestazionale, rispetto al normale, durante il primo trimestre di gravidanza e altri non lo hanno confermato. Successivamente è stata infatti descritta una errata datazione della gravidanza (piuttosto che un reale rallentamento nella crescita fetale), dovuta al ritardo della fase follicolare del ciclo ovarico che contraddistingue le donne diabetiche.^{144,220-225} La crescita fetale nel primo trimestre può essere oggi valutata mediante ecografia 3D che, in associazione alla misura del CRL,

permette la valutazione del volume della testa e del tronco fetale. L'ecografia tridimensionale (3D) ha infatti reso possibile con buon grado di riproducibilità la misurazione del volume della testa e del tronco fetale, del rapporto tra volume del tronco e della testa, del volume della placenta tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane.²²⁶⁻²²⁹ In tal modo abbiamo voluto riesaminare i dati che riguardano l'embriopatia diabetica e l'"early growth delay" fetale nelle gravidanze complicate da PGDM.

Tale procedura diagnostica ci ha permesso di ottenere dati relativi alla biometria ed alla funzione di feto e placenta a 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane nelle gravidanze con diabete mellito stimolandoci a cercare predittori prognostici precoci per le complicanze maggiori di questa condizione in gravidanza. La valutazione di possibili fattori prognostici ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane avviene in epoca antecedente rispetto alla tempistica dello sviluppo di molte delle principali complicanze del diabete in gravidanza. Questa anticipazione diagnostica potrebbe permettere in futuro, teoricamente ed idealmente, la ricerca di possibili misure preventive dei processi fisiopatologici alla base delle complicazioni stesse.

7. IPOTESI

Il diabete mellito materno pre-gestazionale (PGDM) è associato con la nascita di neonati macrosomi ed LGA (large for gestational age), nonostante un apparente buon compenso glicemico.^{8-11,48,53,55,56,59-65,84,85,87,89,104,106,110-113,118-120,196} I fattori prognostici utilizzati attualmente, come ad esempio il tipo di diabete, il body mass index (BMI), i livelli della glicemia capillare e dell'emoglobina glicosilata sierica, la classe di White, permettono di effettuare una categorizzazione basata sull'entità del compenso glicometabolico e dell'eventuale vasculopatia materna associata. Nonostante ciò essi hanno una limitata capacità di prevedere esiti avversi e macrosomia fetale-LGA.^{53,55,57,59-65,84,85,87,110,121}

Lo scopo fondamentale del nostro studio è stato di valutare nuovi fattori prognostici per macrosomia neonatale ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane di gravidanza in gravide affette da diabete mellito pre-gestazionale. Abbiamo articolato la nostra ricerca in tre fasi. Nella prima fase abbiamo valutato le misure correntemente effettuate nel contesto dello screening del primo trimestre per anomalie cromosomiche ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane per verificare se esistessero differenze nel diabete rispetto al normale. Successivamente abbiamo valutato la funzione cardiaca fetale utilizzando l'indice di performance miocardica, il Doppler tricuspide e del dotto venoso nel normale rispetto al diabete. Nella terza fase abbiamo cercato di studiare la biometria fetale e placentare a 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane con un nuovo metodo avvalendoci dell'ecografia 3D e verificando se le volumetrie fetali e placentari osservate nel diabete fossero diverse da quelle normali. Infine abbiamo testato l'efficacia di ciascuna delle misure analizzate nelle tre fasi nella predizione della macrosomia neonatale ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane.

Abbiamo pertanto ipotizzato che la translucenza nucale (NT), i dosaggi sierici materni di gonadotropina corionica umana libera (free β -hCG) e di proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A), l'indice di performance miocardica del cuore di sinistra fetale (MPI; TEI), il Doppler tricuspide (TR) e del dotto venoso (DV), il volume fetale totale (FV) così come quello della testa (HV), del tronco (TV) ed il

volume placentare (PV) possano avere misure diverse nel diabete rispetto al normale e che queste deviazioni dalla norma possano aiutare nella predizione di quei casi che sviluppano macrosomia neonatale. Questi ultimi sono talvolta anche quelli a maggior rischio di scompenso glico-metabolico durante la gravidanza e per testare questa ipotesi abbiamo valutato nello stesso modo anche la concentrazione dell'emoglobina glicosilata materna a diverse epoche gestazionali.

I presupposti teorici per le articolate ipotesi che abbiamo formulato risiedono nella fisiopatologia del microcircolo e della crescita fetale nonché della funzione placentare e cardiaca e sono stati esposti nei capitoli introduttivi della tesi. Infatti, evidenze precedenti che hanno preso in considerazione alcune delle sopraindicate variabili hanno dimostrato talora significative differenze nel diabete rispetto al normale. Tali reperti verranno discussi in questa tesi per spiegare i risultati ottenuti.

La nostra ipotesi è che in conseguenza dell'iperglicemia alla quale sono sottoposti, i feti di madre diabetica presentino alterazioni nei parametri utilizzati per lo screening del primo trimestre (NT, free-βhCG e PAPP-A), sviluppando peculiari ed asimmetrici pattern di crescita restrittivi tra 11⁺⁰ e 13⁺⁶ settimane di gravidanza, eventualmente con compromissione della performance miocardica e della perfusione del dotto venoso e che queste ipotetiche deviazioni dalla norma possano diventare elementi predittivi per la diagnosi di macrosomia neonatale.

8. MATERIALI E METODI

Tra Novembre 2007 e Gennaio 2010 abbiamo eseguito ecografie transaddominali 2D, 3D e Doppler in 50 pazienti affette da PGDM tra 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane di gravidanza ed in 50 controlli normali utilizzando un ecografo dotato di sonde convex 2D e 3D 4-8 MHz a scansione meccanica automatica (Voluson 730 Expert Operation Manual, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA). In 35 di esse è stato anche ottenuto il consenso per il dosaggio delle concentrazioni sieriche materne di free- β hCG e PAPP-A. Abbiamo definito PGDM sia il diabete di tipo 1 che il diabete di tipo 2 che siano stati diagnosticati almeno un anno prima della data presunta del parto.⁴⁻⁶ La datazione della gravidanza si è basata sul ciclo mestruale della paziente ed è stata confermata con la misurazione ecografica del crown rump length (CRL) fetale tra 8 e 9 settimane. Le pazienti incluse nello studio avevano tutte cicli mestruali regolari di 27-29 giorni ed erano sicure della data esatta del primo giorno dell'ultima mestruazione. Le pazienti con cicli mestruali irregolari o datazione incerta sono state escluse dallo studio. In tutti i casi il CRL fetale misurato con l'ecografia 2D risultava essere nel range di normalità per l'epoca gestazionale.²³⁰ Abbiamo raccolto anche le seguenti informazioni anamnestiche: età delle pazienti, parità, BMI, fumo di sigaretta, utilizzo di metodiche di procreazione medico-assistita o di farmaci per induzione dell'ovulazione, gruppo etnico, epoca gestazionale al momento dello studio, al momento del parto e peso alla nascita. L'ecografia 2D è stata utilizzata per la valutazione dell'anatomia fetale, la misurazione di CRL, NT e la valutazione dell'osso nasale fetale (NB) secondo la tecnica descritta e validata dalla Fetal Medicine Foundation (FMF; www.fetalmedicine.com; Figure 2 e 3).^{197-199,231} Le concentrazioni sieriche materne di free- β hCG e PAPP-A sono state dosate per mezzo di strumentazione Kryptor Brahms, la cui accuratezza per le misurazioni in oggetto è stata precedentemente dimostrata e validata.^{231,239} Per la valutazione della translucenza nucale si è curato l'ottenimento di un ingrandimento sufficiente a contenere nello schermo ecografico solo la testa ed il torace fetale al fine di visualizzare meglio la regione di interesse ed è stata ottenuta la scansione sagittale mediana del feto in posizione neutra. Il caliper è stato posizionato "on to on" in modo da misurare soltanto la zona anecogena della translucenza nucale nel punto del suo massimo spessore, i guadagni 2D sono stati ridotti e le armoniche

disattivate al fine di ottenere una membrana nucale il più sottile possibile. (Figura 2) Per la visualizzazione dell'osso nasale si è utilizzato lo stesso ingrandimento e la stessa scansione sagittale mediana descritta, mantenendo il trasduttore parallelo al naso fetale. L'osso nasale è stato definito presente con ecogenicità chiaramente superiore a quella della cute soprastante ed ipoplastico od assente con l'ecogenicità fosse uguale od inferiore ad essa (Figura 3) L'ecografia Doppler colore e spettrale-pulsata è stata utilizzata per la valutazione della flussimetria del dotto venoso e della valvola tricuspide fetale secondo le tecniche descritte e validate dalla FMF ²³²⁻²⁴⁰ (Figure 4-7) Per la valutazione del dotto venoso si è ottenuta una scansione sagittale mediana del feto con un ingrandimento sufficiente a contenere nello schermo ecografico solo addome e torace fetale al fine di visualizzare meglio la regione di interesse, il volume campione è stato ridotto a 0.5-1.0 mm al fine di evitare contaminazioni con vasi adiacenti, l'angolo di insonazione è stato mantenuto inferiore a 30° per ottimizzare il segnale Doppler ed il filtro è stato mantenuto inferiore od uguale a 70 MHz per intensificare il segnale dei flussi a bassa velocità, infine la velocità del tracciato è stata incrementata fino a contenere 3-6 onde nel monitor. L'onda A è stata definita normale in presenza di flusso positivo od assente (Figura 4) ed anormale in presenza di flusso invertito (Figura 5). Per la valutazione del Doppler tricuspide abbiamo ottenuto una scansione apicale delle quattro camere cardiache, con un ingrandimento sufficiente a contenere nello schermo ecografico solo il torace fetale al fine di visualizzare meglio la regione di interesse, il volume campione è stato settato a 3.0 mm per indagare correttamente tutta la superficie valvolare sia sul versante atriale che ventricolare, l'angolo di insonazione è stato mantenuto inferiore a 30° per ottimizzare il segnale Doppler la velocità del tracciato è stata incrementata fino ad arrivare a contenere 3-6 onde nello schermo (Figura 6). Abbiamo considerato presente il rigurgito tricuspide solo nel caso in cui venisse dimostrato ripetutamente su più cicli cardiaci un jet con direzione inversa rispetto a quello del flusso atrio-ventricolare, con una velocità superiore a 60 cm/sec e con una durata pari almeno a metà della sistole (Figura 7). Sia per la valutazione Doppler del dotto venoso che per quella della valvola tricuspide sono stati ottenuti almeno tre separati campionamenti (con rispettive immagini) aventi almeno tre onde con tracciato identico prima di stabilire la valutazione del pattern flussimetrico.

Tutte le misure sono state effettuate da un singolo operatore certificato dalla FMF per ecografia del primo trimestre, markers di cromosomopatia, Doppler ostetrico, ecocardiografia fetale e per il training degli operatori nell'ecografia del primo trimestre (PC). L'aderenza agli standard FMF è stata confermata annualmente con il superamento dell'audit per il controllo della performance di tutte le misurazioni in oggetto.

La misura della MPI è stata ottenuta secondo una tecnica descritta in precedenza da più di un gruppo di ricerca.²¹¹⁻²¹² Abbiamo ottenuto una scansione delle quattro camere cardiache apicale ed applicato il Doppler spettrale pulsato a livello del piano delle valvole atrioventricolari, in prossimità della crux, ottenendo sullo stesso tracciato il pattern della valvola mitrale e quello dell'efflusso arterioso aortico. Abbiamo utilizzato la stessa metodologia appena descritta ed utilizzata per la valutazione del rigurgito tricuspide. Differentemente, la regione di interesse analizzata in questo caso è stata la valvola mitrale e la velocità del tracciato è stata aumentata ulteriormente per ottenere il massimo della precisione nella misura dei tempi. Abbiamo definito tempo di contrazione isovolumeletrica (ICT) il tempo tra il punto di azzeramento del flusso rappresentato dall'onda A della valvola mitrale (chiusura valvola mitrale) e l'inizio dell'efflusso aortico, tempo di eiezione (ET) il tempo tra l'inizio e la fine del flusso aortico e tempo di rilassamento isovolumetrico (IRT) quello tra l'azzeramento del flusso aortico e l'inizio dell'onda E successiva della valvola mitrale (apertura valvola mitrale). Abbiamo quindi calcolato il TEI index del cuore di sinistra fetale sommando ICT ad IRT e dividendo il totale per ET ($TEI \text{ o } MPI = \frac{ICT + IRT}{ET}$; Figure 8 e 9). Per validare questa misura abbiamo effettuato uno studio preliminare di riproducibilità. Il tempo totale dell'esame Doppler fetale, incluse le valutazioni della valvola tricuspide e del dotto venoso, è stato limitato a meno di 3 minuti in tutti i 100 casi al fine di garantire la sicurezza dell'analisi e l'indice meccanico e termico non hanno mai superato il valore soglia di 1.

L'ecografia 3D è stata utilizzata per l'acquisizione e l'archiviazione di blocchi statici dell'utero gravido, del feto (Figura 10), e della placenta (Figura 11) secondo la metodica precedentemente descritta.²²⁶⁻²²⁹ In ogni singolo caso abbiamo utilizzato l'ecografia 3D e l'analisi con la tecnica Virtual Organ Computer-aided AnaLysis

(VOCAL), (Voluson 730 Expert Operation Manual, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA) per misurare il volume placentare (PV), il volume della testa fetale (HV) ed il volume di testa e tronco fetali (FV). Il volume del tronco fetale (TV) è stato ottenuto sottraendo il volume della testa fetale dal volume dell'intero feto ($TV=FV-HV$). Acquisiti i volumi fetali abbiamo calcolato il rapporto tra volume della testa e volume del tronco fetale (HTR). Abbiamo ottenuto una sequenza di sei sezioni longitudinali della testa del feto e della testa e del tronco insieme, intorno ad assi fissati in precedenza, ciascuno dei quali era ruotato di 30° rispetto al precedente. Per la misurazione del volume della placenta abbiamo utilizzato lo stesso metodo ma con un angolo di rotazione di 15° , come originariamente descritto in precedente pubblicazione in quanto maggiormente riproducibile ed adeguato per la misurazione di una struttura con forma irregolare.²²⁹ Abbiamo disegnato manualmente in ciascun piano il contorno della placenta, della testa del feto e della testa e del tronco fetale insieme, per ottenere le misure dei volumi 3D (Figura 10 e 11). In precedenza abbiamo già descritto la fattibilità, la riproducibilità e le curve di riferimento di queste misure in uno studio di 400 feti normali.²²⁶⁻²²⁹

Ogni misurazione ecografica realizzata in questo studio è stata effettuata dallo stesso operatore (PC) senza che egli conoscesse l'esito finale della gravidanza.

In tutte le gravidanze diabetiche la concentrazione dell'emoglobina glicata (HbA1c) è stata misurata con la tecnica High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) in epoca periconcezionale, (4-6 settimane di amenorrea), all'epoca dello studio (11^{+0} - 13^{+6} settimane) e nel secondo trimestre (14-20 settimane). E' stata, inoltre, calcolata la differenza della seconda meno la prima (delta HbA1c I trimestre = HbA1c allo studio – HbA1c periconcezionale) ed il delta HbA1c II trimestre (delta HbA1c II trimestre = HbA1c II trimestre – HbA1c allo studio).

L'esito neonatale è stato registrato ed abbiamo definito macrosomi i feti il cui peso alla nascita superasse il 95° centile per epoca gestazionale.^{241,242}

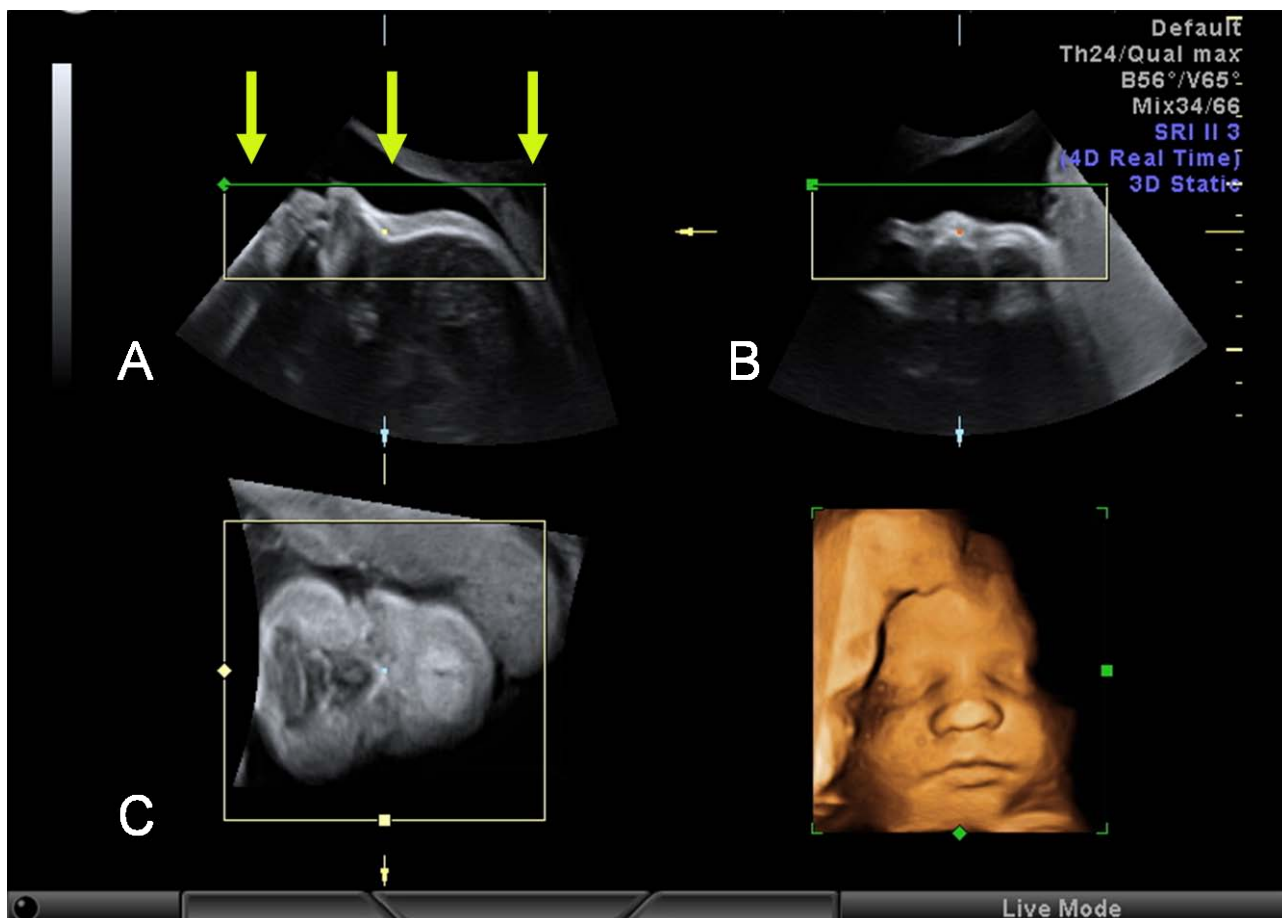


Figura 1: Metodica di acquisizione di un blocco statico tridimensionale del volto fetale mediante ecografia 3D. Si notino i tre piani di sezione: piano di acquisizione (A), piano trasversale (B), piano coronale (C). Nel piano A e B si noti il box che delimita la regione di interesse rappresentata con rendering tridimensionale di superficie nella parte inferiore destra della figura. Il marcatore al centro di ogni piano di sezione indica il punto di intersezione dei tre piani A, B e C e viene utilizzato per analizzare le strutture nelle tre proiezioni, in questo caso è posizionato a livello dell'osso nasale.



Figura 2: Misura delle translucenza nucale fetale a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.



Figura 3: Visualizzazione dell'osso nasale fetale a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.

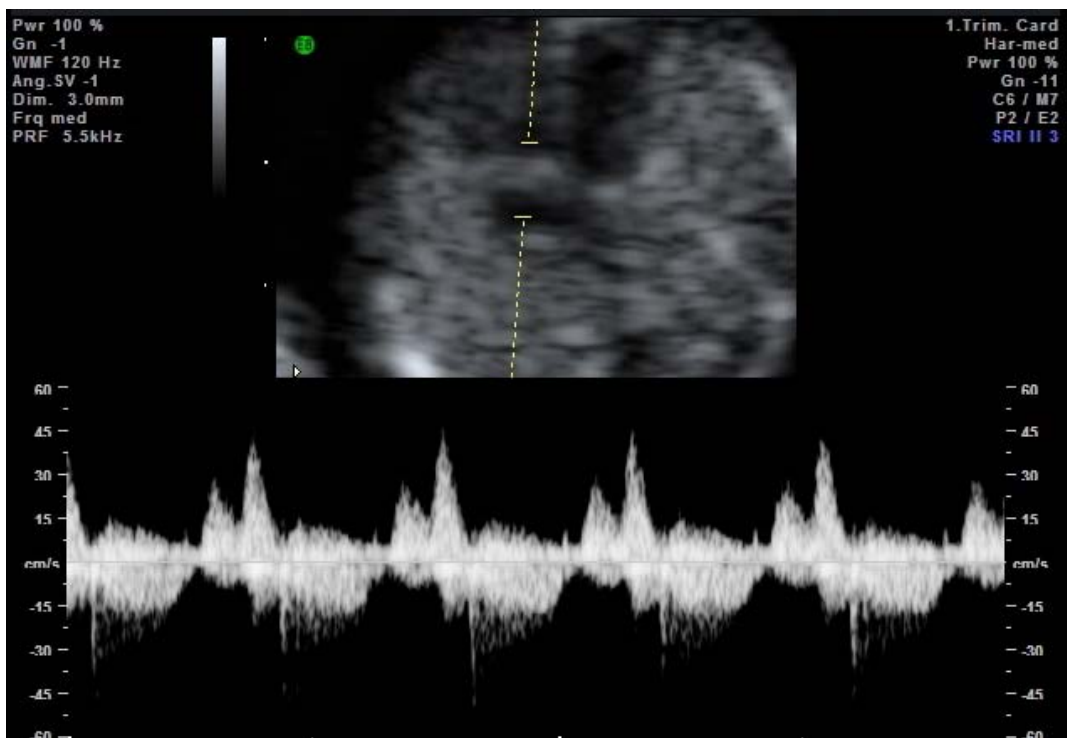


Figura 4: Doppler tricuspide normale a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.

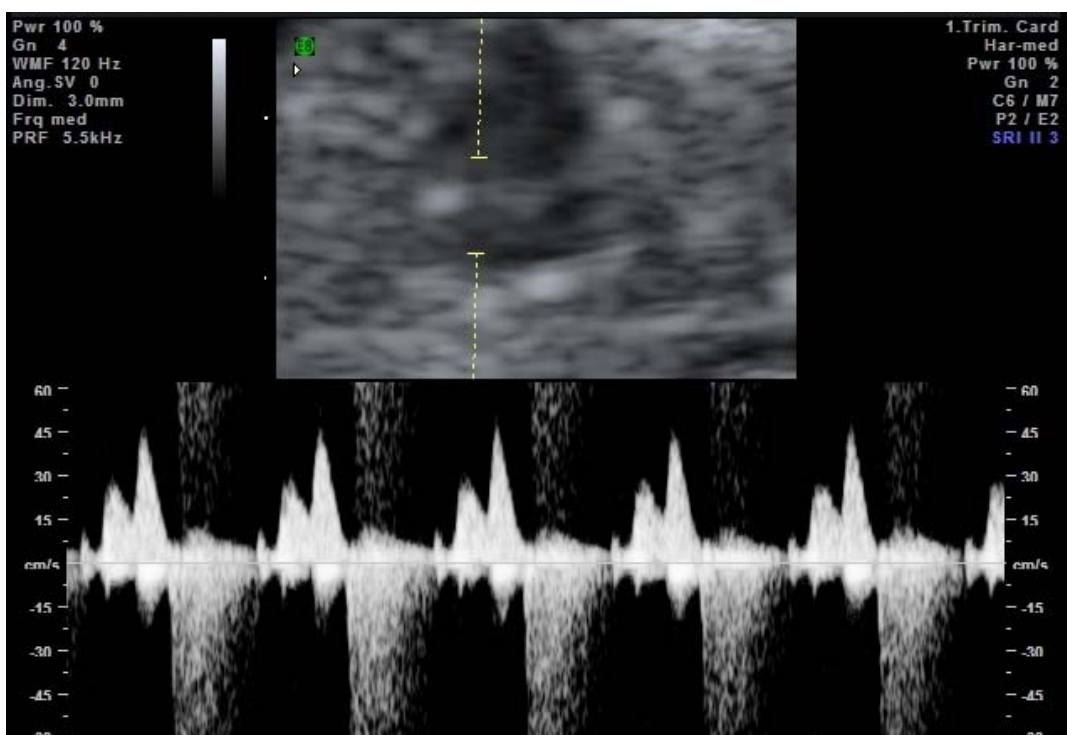


Figura 5: Rigurgito tricuspide olosistolico a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.

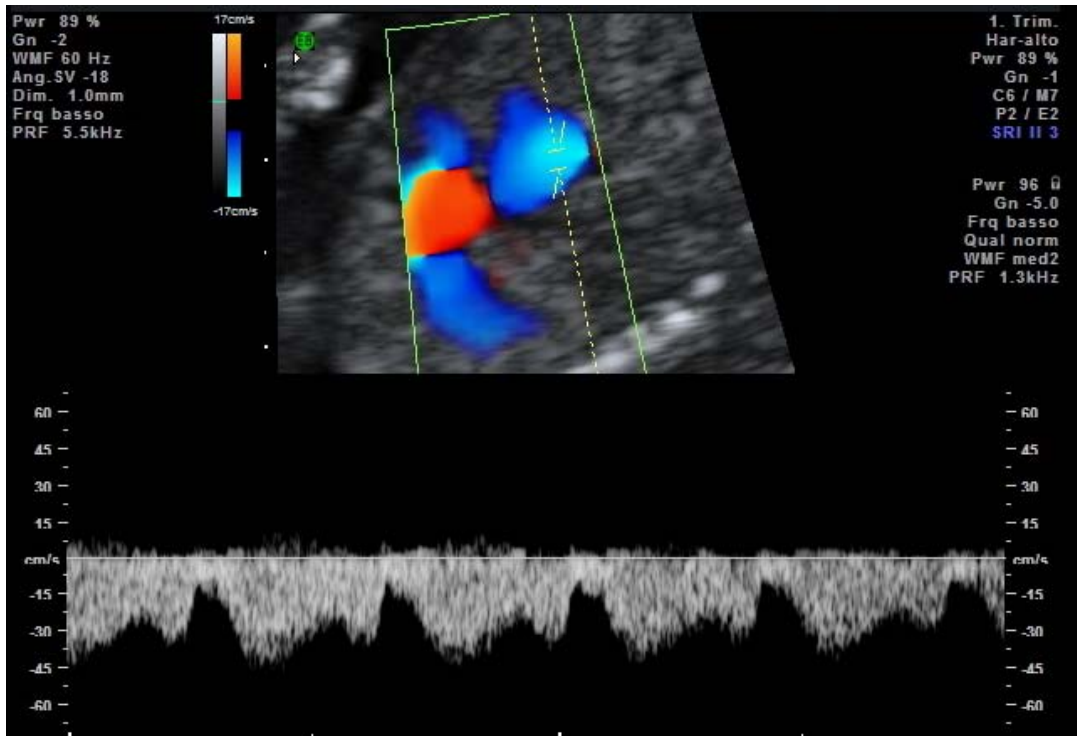


Figura 6: Normale pattern flussimetrico con onda A positiva a livello del Doppler del dotto venoso a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.

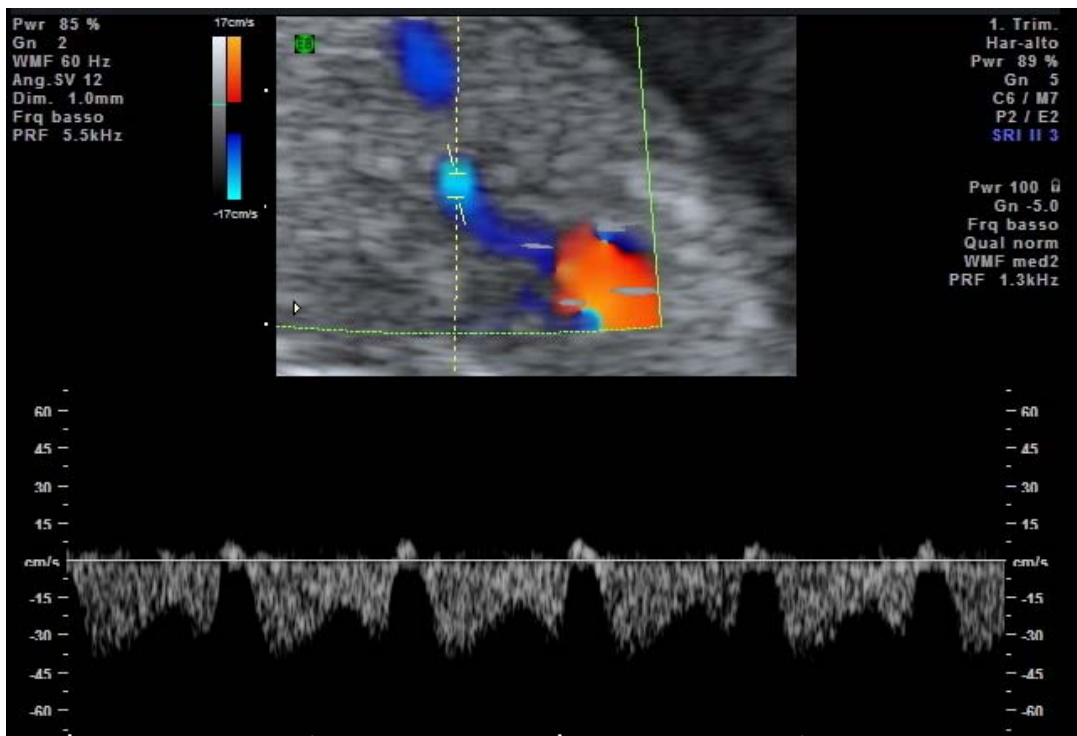


Figura 7: Doppler del dotto venoso anormale con onda A invertita a 12 settimane di gestazione in una paziente con diabete pregestazionale.

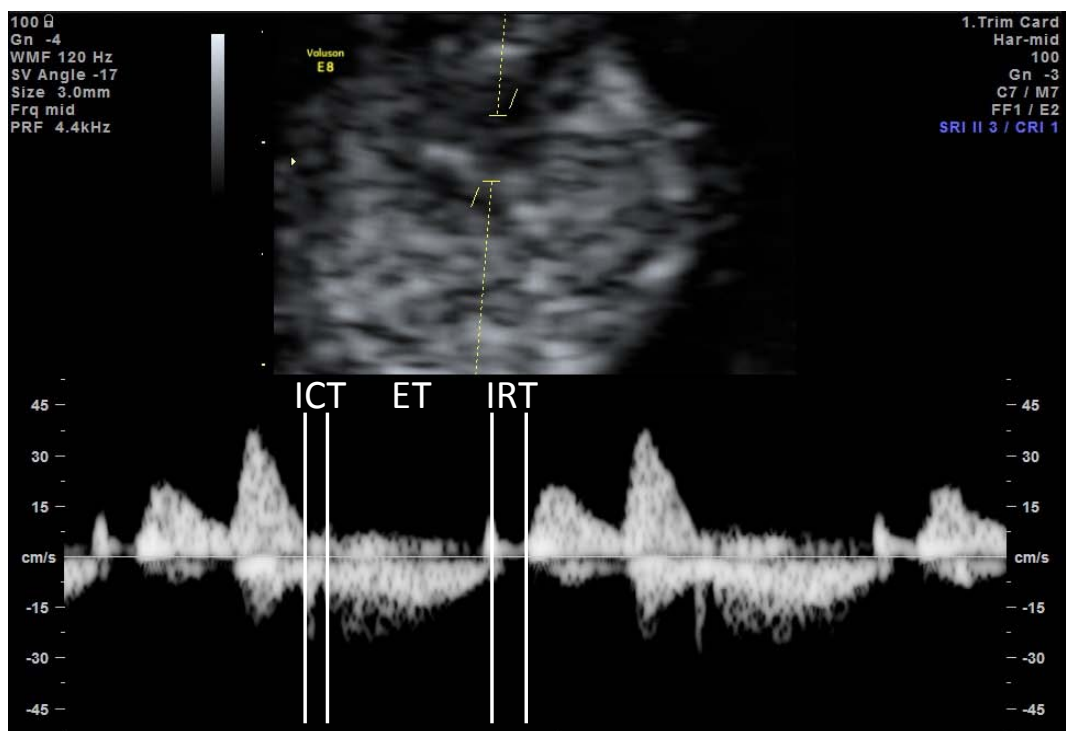


Figura 8: Misura del TEI index (MPI) del cuore di sinistra a 12 settimane gestazionali in una paziente con diabete pregestazionale. ICT: isovolumetric contraction time; ET: ejection time (sistole); IRT: isovolumetric relaxation time. I flussi con velocità positive rappresentano onda E ed A della valvola mitrale, il flusso con velocità negativa nell'intervallo ET rappresenta il pattern aortico. $TEI(MPI)=ICT+IRT/ET$

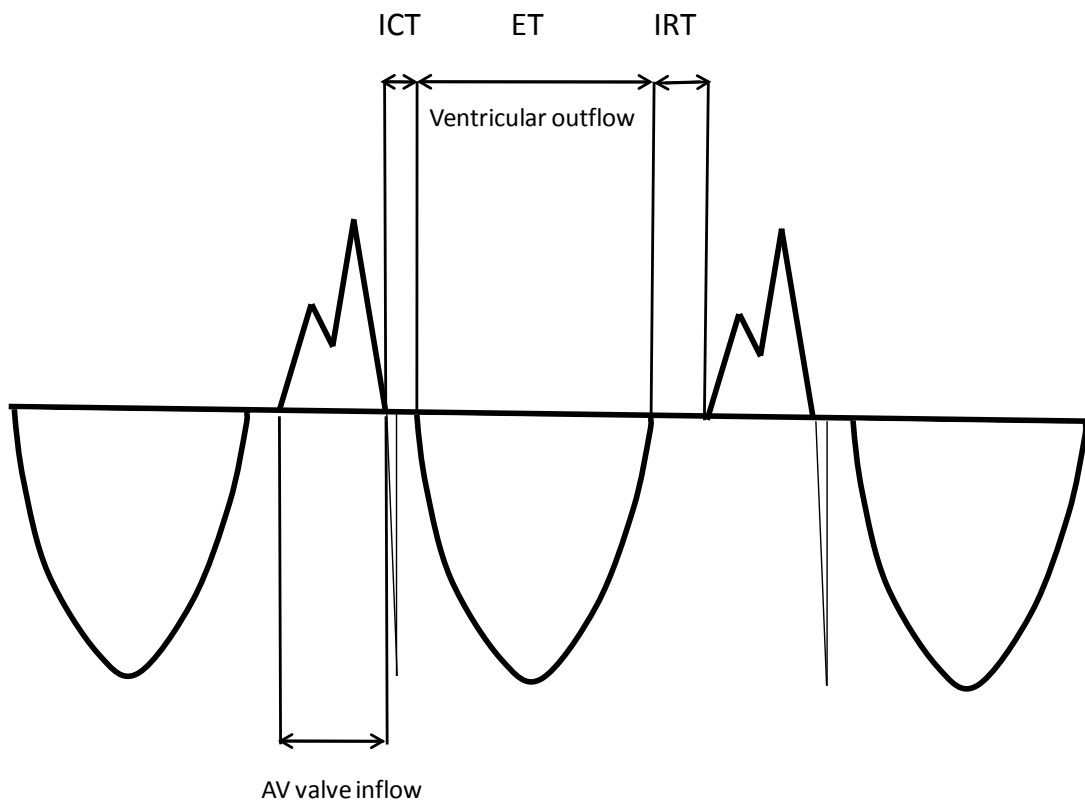


Figura 9: Rappresentazione grafica della misura del TEI index. ICT: isovolumetric contraction time; ET: ejection time (systole); IRT: isovolumetric relaxation time; AV valve inflow: diastole; ICT+ET+Av valve inflow: diastole. $TEI(MPI) = \frac{ICT + IRT}{ET}$.

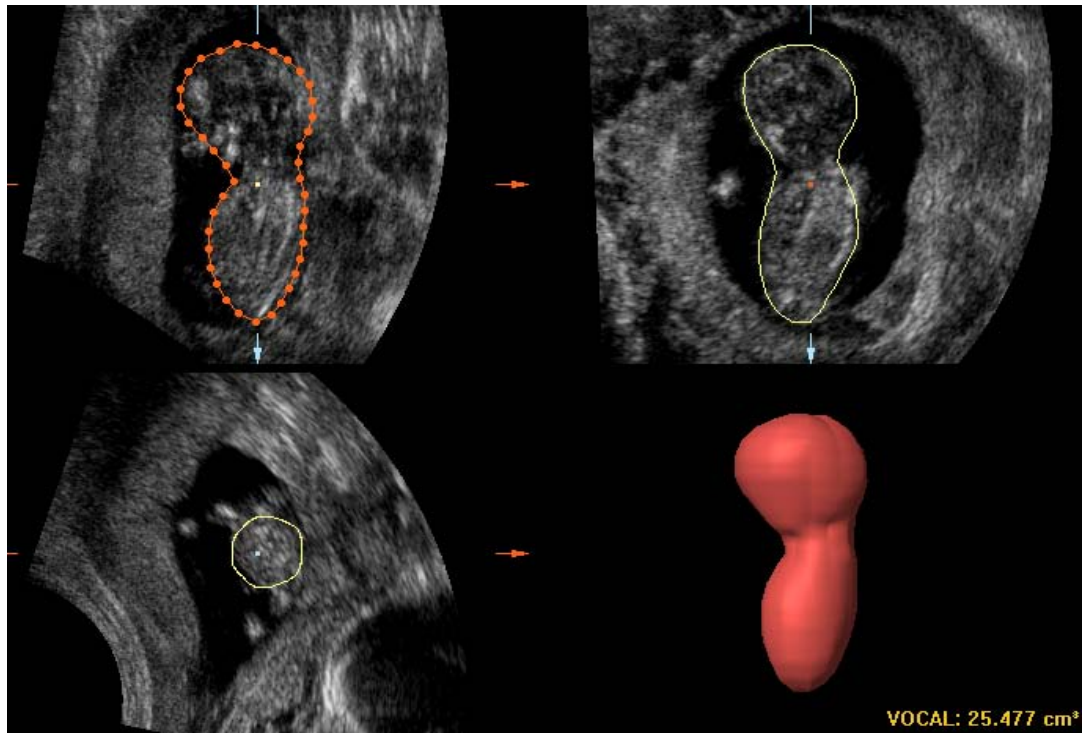


Figura 10: Volume fetale 3D ottenuto con tecnica VOCAL tra 11^{+0} - 13^{+6} settimane.

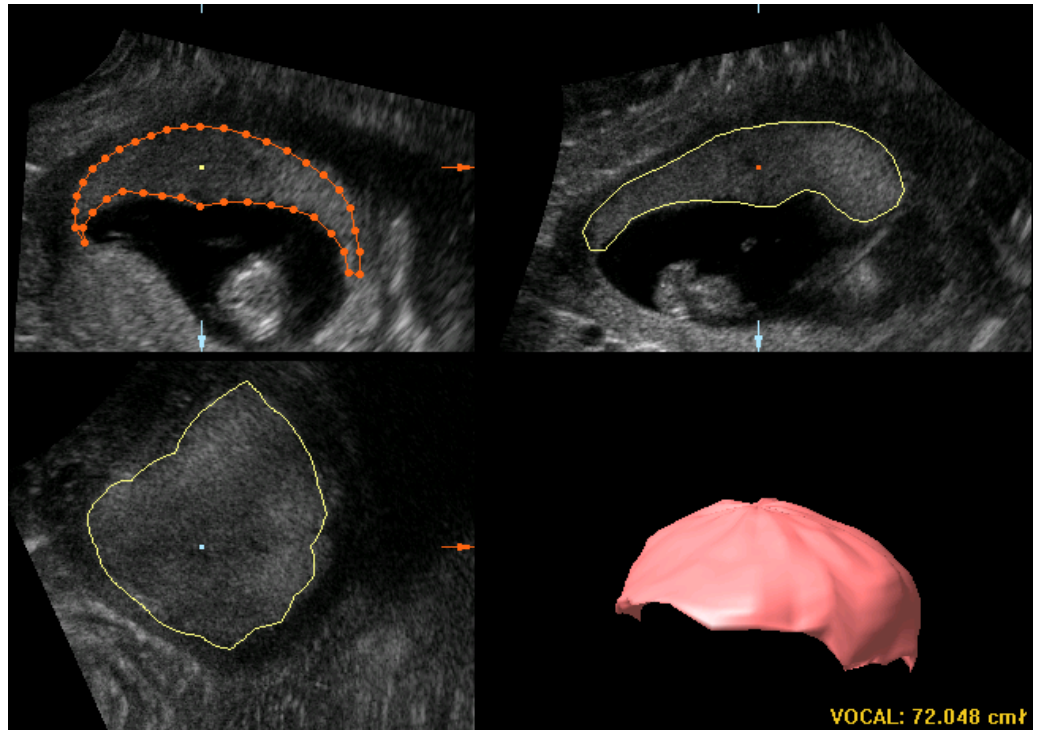


Figura 11: Volume placentare 3D ottenuto con tecnica VOCAL tra 11^{+0} - 13^{+6} settimane.

8a. Analisi statistica

Il test di Kolmogorow-Smirnov ha dimostrato che non tutti i gruppi di studio hanno una distribuzione normale, quindi, considerata anche la scarsa numerosità del campione in analisi, sono stati scelti test non parametrici per l'analisi statistica di tutti i gruppi. I dati sono stati presentati con percentuali, mediane ed interquartile range (IQR) od intervalli di confidenza non-parametrici al 95% (95% np CI). Per le misure con distribuzione continua è stato anche effettuato un confronto delle mediane di casi diabetici e controlli normali con il valore medio atteso ricavato da equazioni di regressione ottenute precedentemente in studi su ampie popolazioni con distribuzione normale, sfruttando la coincidenza matematica tra media e mediana nelle distribuzioni normali.

Il confronto della caratteristiche demografiche nel gruppo normale ed in quello diabetico è stato effettuato mediante Mann Whitney U-test per variabili continue e mediante Chi-square test per variabili categoriche (Tabella 4). L'analisi delle variabili continue dello screening del primo trimestre (CRL, NT, free β hCG, PAPP-A) è stata quindi ottenuta mediante Mann Whitney U-test per il confronto tra casi diabetici e controlli normali (Tabella 5). Per CRL ed NT abbiamo confrontato le differenze tra i Valori Delta (Valore Delta = valore osservato - valore atteso dall'equazione di regressione) dalla media normale delle rispettive misure in controlli normali e diabetici. Le formule matematiche utilizzate per ottenere i valori attesi derivano da studi di ampie dimensioni che hanno usato una metodologia identica a quella del presente studio e sono le seguenti:

CRL atteso in mm = $0.0144 \times (GA)^2 - 0.6444 \times GA + 7.295$; (GA= epoca gestazionale in giorni)²³⁰

NT attesa in mm = $-0.8951 + (0.02940 \times CRL) - (0.0001812 \times CRL^2)$; (CRL=crown rump length in millimetri)¹⁹⁹

Le variabili biochimiche sono state dosate in UI/L e convertite in multipli della mediana (MoM) utilizzando l'algoritmo della FMF ed Astraia Software[®], prendendo in

considerazione il peso, l'altezza, la parità, il fumo di sigaretta, il gruppo etnico, l'utilizzo di metodiche di procreazione medico-assistita e/o di farmaci per induzione dell'ovulazione e questi valori sono stati utilizzati per analizzare le differenze tra diabetici e controlli normali mediante Mann Whitney U-test (Tabella 5).^{198,239}

L'analisi delle variabili categoriche dello screening del primo trimestre: osso nasale (NB), rigurgito tricuspide (TR) e Doppler del dotto venoso (DV) è stata ottenuta confrontando il gruppo diabetico ed i controlli normali mediante χ^2 test (Tabella 6). Per il Doppler del dotto venoso è stata anche effettuata una analisi delle likelihood ratios (LR) confrontando normali e diabetici, diabetici con esito in macrosomia neonatale e diabetici senza esito in macrosomia neonatale. Abbiamo quindi effettuato nuovamente il confronto tra tali nuovi gruppi mediante χ^2 test (Tabella 7).

Le mediane del TEI index (MPI) dei feti di madre sana e diabetica, di diabetici macrosomi e diabetici non macrosomi e delle diverse concentrazioni di HbA1c sono state confrontate applicando il Mann Whitney U-test (Tabella 8 e 9) Per il TEI index, misura non ancora validata nella pratica clinica in ostetricia e per la quale non era ancora stata da noi dimostrata la riproducibilità, sono state effettuate due misurazioni successive in due tracciati flussimetrici diversi ed acquisiti a pochi secondi di distanza l'uno dall'altro dallo stesso operatore che ha condotto lo studio. Al fine di verificare la concordanza delle misure e l'eventuale bias intra-osservatore è stata quindi calcolata la differenza media tra coppie di misurazioni appaiate e prodotto il diagramma di Bland-Altman (Figura 12).

Le misurazioni 3D ottenute per ciascuna gravidanza diabetica e per ciascun controllo sano sono state espresse come differenza dalla media attesa per CRL, precedentemente stabilita con uno studio di 400 feti normali tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane (Valore Delta) utilizzando le seguenti formule matematiche:

$$\underline{\text{Volume fetale atteso (mL)}} = 1.376 \times \text{GA} - 100.2;^{226}$$

$$\underline{\text{Volume testa fetale atteso (mL)}} = 0.412 \times \text{CRL} - 15.909;^{228}$$

$$\underline{\text{Volume tronco fetale atteso (mL)}} = 0.387 \times \text{CRL} - 14.529;^{228}$$

$$\text{Rapporto tra testa e tronco fetale atteso} = 0.003 \times \text{CRL} + 0.821;^{228}$$

$$\text{Ln (Volume placentare atteso in mL) (PV)} = 0.029 \times \text{GA} + 1.693;^{229}$$

Dove GA= epoca gestazionale in giorni e dove CRL= crown rump length in millimetri.

Il Mann Whitney U-test è stato quindi utilizzato per paragonare la significatività della differenza delle mediane delle misure ecografiche dei diabetici con quelle dei controlli normali e tra ciascuno dei due gruppi ed il valore medio normale precedentemente stabilito, come sopra esposto. Abbiamo quindi effettuato una analisi di regressione estrapolando le equazioni che meglio rappresentassero la distribuzione delle misure CRL, NT, FV, HV, TV, HTR e PV in rapporto ad epoca gestazionale nel nostro gruppo di controlli sani. Il “best fit” delle variabili in oggetto è stato così definito con una serie di equazioni che sono state quindi utilizzate per ottenere nuovi valori attesi per epoca gestazionale. Tali valori attesi sono stati confrontati mediante Mann Whitney U-test con quelli ottenuti dalle rispettive formule del precedente lavoro su 400 gravidanze normali, al fine di verificare l’aderenza della metodologia utilizzata nella presente ricerca con quella utilizzata nella precedente, esaminando così ulteriormente la correttezza delle nostre misurazioni in modo da poter escludere errori sistematici o tecnici.

Il compenso glicemico delle gravidanze con diabete mellito è stato valutato confrontando mediante Mann Whitney U-test le mediane dei valori di HbA1c nel periodo periconcezionale, all’epoca dello studio e nel secondo trimestre nel gruppo che ha sviluppato macrosomia alla nascita con il gruppo che non ha presentato questa complicanza. Inoltre abbiamo calcolato il Delta HbA1c I trimestre ed il Delta HbA1c II trimestre per valutare l’eventuale miglioramento del compenso glicemico nel corso della gravidanza e li abbiamo confrontati in ciascun gruppo con lo stesso metodo. (Delta HbA1c I trimestre= HbA1c all’epoca dello studio-HbA1c periconcezionale; HbA1c II trimestre= HbA1c II trimestre-HbA1c all’epoca dello studio)

Abbiamo quindi effettuato una analisi di regressione lineare per verificare l’associazione tra centile del peso alla nascita e variabili a distribuzione continua, ad eccezione del MPI per il quale validate curve di regressione non erano disponibili da

studi precedenti effettuati su grandi campioni di feti normali all'epoca gestazionale il oggetto. In questa fase abbiamo quindi considerato il peso alla nascita come variabile continua. Successivamente abbiamo utilizzato il Mann-Whitney U test per valutare il valore predittivo delle stesse misure per prevedere l'outcome in termini di macrosomia neonatale, ed in questa fase abbiamo invece considerato il peso alla nascita come variabile categorica (peso alla nascita \geq 95° centile=macrosomia; peso alla nascita < 95° centile=non-macrosomia).²⁴¹ L'equazione utilizzata per il calcolo del peso alla nascita atteso per epoca gestazionale (e relativi centili) è stata ottenuta da dati recentemente pubblicati relativi all'analisi di più di 30000 gravidanze normali:

$$\text{Log}_{10}(\text{peso alla nascita atteso in gr}) = -0.6329 + 0.1873 \times (\text{GA}) - 0.0021 \times (\text{GA})^2; \text{SD} = 0.0581;^{242} ; (\text{GA} = \text{epoca gestazionale in giorni})$$

I dati sono stati analizzati utilizzando Microsoft Excel ed il software per la statistica SPSS 13.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). E' stato considerato statisticamente significativo un valore di $p < 0.05$.

9. RISULTATI

I risultati di questo studio sono sintetizzati nelle tabelle 4-11 e nelle figure 13-22.

Le caratteristiche demografiche delle pazienti, l'epoca gestazionale al momento dello studio ed a quello del parto ed il centile di peso alla nascita sono confrontate nella Tabella 4. Nel gruppo con PGDM l'età materna ed il BMI sono stati significativamente maggiori rispetto al gruppo di controllo. Il peso alla nascita è stato superiore al 90° centile per epoca gestazionale in 24 (48%) feti di madre diabetica ed in 2 (4%) dei controlli mentre ha superato il 95°centile in 13 (26%) pazienti diabetiche ed in 2 (4%) controlli. Il cariotipo fetale è stato normale in tutti i casi e non si sono riscontrati difetti cardiaci od anomalie strutturali maggiori in entrambi i gruppi. L'analisi di regressione lineare per verificare l'associazione tra centile del peso alla nascita e variabili demografiche a distribuzione continua non ha presentato significatività statistica.

Nel gruppo di controllo si è riscontrata una correlazione significativa tra CRL, NT fetale, volume fetale, volume della testa, volume del tronco, rapporto tra testa e tronco, volume della placenta ed epoca gestazionale. L'analisi di regressione ha estrapolato le equazioni che meglio rappresentassero la distribuzione delle misure in oggetto in rapporto ad epoca gestazionale nel nostro gruppo di controlli sani e della quali sono stati ottenuti altri valori attesi medi per le misure in oggetto:

$$\text{CRL atteso (mm)} = -63.967 + 1.458 \times \text{GA}; R^2 = 0.892; p < 0.001$$

$$\text{NT attesa (mm)} = -0.49 + 0.03 \times \text{GA}; R^2 = 0.16; p = 0.015$$

$$\text{Volume fetale totale atteso (mL)} = -77.830 + 1.122 \times \text{GA}; R^2 = 0.741; p < 0.001$$

$$\text{Volume della testa fetale atteso (mL)} = -42.824 + 0.608 \times \text{GA}; R^2 = 0.790; p < 0.001$$

$$\text{Volume del tronco fetale atteso (mL)} = -36.862 + 0.537 \times \text{GA}; R^2 = 0.705; p < 0.001$$

$$\text{Rapporto testa/tronco fetale atteso} = 0.447 + 0.007 \times \text{GA}; R^2 = 0.344; p < 0.001$$

$$\text{Volume placentare atteso (mL)} = -101.23 + 1.94 \times \text{GA}; R^2 = 0.590; p < 0.001$$

Dove GA= epoca gestazionale in giorni.

I valori attesi medi ottenuti da queste equazioni di regressione sono stati confrontati con i rispettivi ottenuti dalle equazioni di regressione descritte nei metodi di questa tesi, senza ottenere significatività statistica nei controlli normali, anche dopo aver corretto tutti i dati per CRL. Questo ha pertanto confermato la correttezza metodologica delle misurazioni, in particolare quelle meno validate nell'utilizzo clinico corrente come le 3D (Tabella 5 e 10).

Nel gruppo di pazienti diabetiche, paragonato a quello dei controlli, non ci sono state differenze significative per quanto riguarda le seguenti variabili continue: CRL ($p=0.251$; Figura 14; Tabella 5), NT ($p=0.521$; Figura 13; Tabella 5), MoM free- β hCG ($p=0.374$; Tabella 5), MoM PAPP-A ($p=0.725$; Tabella 5). L'analisi di regressione nelle pazienti diabetiche non ha rilevato correlazione significativa tra delta CRL ($p=0.317$), delta NT ($p=0.947$), MoM free- β hCG ($p=0.689$), MoM PAPP-A ($p=0.598$) e centile di peso alla nascita, rispettivamente. Lo stesso risultato è stato ottenuto nella analisi di regressione delle stesse misure nei controlli sani (Tabella 12).

In relazione alle variabili categoriche non ci sono state differenze significative tra i due gruppi per ciò che riguarda osso nasale ($p=0.317$; Tabella 6) e Doppler tricuspide ($p=0.317$; Tabella 6), mentre per la flussimetria del dotto venoso il tracciato patologico è stato significativamente più frequente nel gruppo di gravide diabetiche rispetto al normale ($p<0.001$; LR+ 6.50; 95% np CI 1.55-27.33; Tabella 7). L'analisi dettagliata delle likelihood ratios positive e negative ha confermato un incremento significativo di tracciati patologici nelle diabetiche, in particolare quelle che esitano in macrosomia neonatale, rispetto a quelle che non la sviluppano (LR+ 3.32; 95% np CI 1.37 to 8.08) e chiaramente questa differenza è ancora maggiore tra le diabetiche con esito in macrosomia rispetto al normale (LR+ 7.00; 95% np CI 3.05-16.07). La likelihood ratio di una flussimetria del dotto venoso normale nella gravida diabetica decresce passando dal confronto tra diabete e normale (LR- 0.50; 95% np CI 0.37-0.69), a quello tra diabete con macrosomia e diabete senza macrosomia (LR- 0.30; 95% CI np 0.12-0.73) a quello tra diabete con macrosomia e normale (LR- 0.14; 95% np CI 0.06-0.21) e le

differenze tra questi gruppi sono state tutte altamente significative. (rispettivamente $p < 0.001$; $p = 0.008$; $p < 0.001$; Tabella 7).

Nel gruppo di pazienti diabetiche, paragonato a quello dei controlli, ci sono state differenze significative per quanto riguarda l'indice di performance miocardica (TEI, MPI) del cuore di sinistra fetale che è stato maggiore nel PGDM rispetto al normale (mediana normali = 0.46 msec; IQR: da 0.40 a 0.50; mediana diabetici 0.46; IQR: da 0.46 a 0.59; $p < 0.001$) e la significatività si è mantenuta nel confronto tra diabetici che sviluppano macrosomia alla nascita versus diabetici che non la sviluppano (mediana diabetici macrosomi = 0.60; IQR: da 0.56 a 0.66; media diabetici non macrosomi = 0.50; IQR: da 0.52 a 0.56; $p < 0.001$; Tabella 8). Nel Bland-Altman plot lo studio relativo alla riproducibilità di questa misura, è stato dimostrato che le variazioni della concordanza tra misure intra-osservatore si sono mantenute inferiori al 5% (Figura 12). L'analisi di regressione non ha rilevato correlazione significativa tra MPI e centile di peso alla nascita in entrambi i gruppi di pazienti sane ($p = 0.936$) e diabetiche ($p = 0.490$; Tabella 12)

Nel gruppo normale nessuna paziente era affetta da diabete mellito né ha sviluppato diabete gestazionale nel corso della gravidanza. Nel gruppo di pazienti diabetiche con neonato macrosoma alla nascita, paragonato a quello di diabetiche che non hanno sviluppato macrosomia, non ci sono state differenze significative per quanto riguarda il valore dell'emoglobina glicosilata (HbA1c) periconcezionale ($p = 0.293$), all'epoca dell'ecografia 3D ($p = 0.187$), od il loro Valore Delta ($p = 0.287$); (Tabella 9; Figura 21). Diversamente, la concentrazione di HbA1c nel secondo trimestre si è dimostrata debolmente predittiva per macrosomia neonatale con significatività statistica ($p = 0.014$; Figura 21; Tabella 9), mentre ciò non si è verificato per il delta HbA1c del II trimestre ($p = 0.210$; Tabella 9). Entrambi i delta HbA1c calcolati hanno presentato mediane con segno negativo, dimostrando così una riduzione dell'emoglobina glicosilata con il procedere della gravidanza. L'analisi di regressione non ha rilevato correlazione significativa tra HbA1c periconcezionale ($p = 0.211$) o all'epoca dello studio ($p = 0.149$) e centile di peso alla nascita, mentre tale correlazione è stata significativa per HbA1c nel secondo trimestre ($p < 0.001$; Tabella 12)

Nel gruppo di pazienti diabetiche, paragonato a quello dei controlli normali, non ci sono state differenze significative per quanto riguarda volume di testa e tronco fetali ($p=0.072$; Tabella 10; Figura 10 e 15) e volume della testa fetale ($p=0.521$; Tabella 10; Figura 16), mentre il tronco (DeltaTV mediano diabete=-1.86; IQR: da -2.86 a -0.20; DeltaTV mediano normale= 0.11; IQR: da -1.69 a 1.55; $p<0.001$; Tabella 10; Figura 17;) e la placenta (DeltaPV mediano diabete= -15.69; IQR: da -25.31 a -8.35; DeltaPV mediano normale= 1.63; IQR: da -4.58 a 4.79; $p<0.001$; Tabella 10; Figura 11 e 20) sono risultati di volume significativamente inferiore al normale ed il rapporto tra volume della testa e volume del tronco (HTR) è risultato aumentato (DeltaHTR mediano diabete=0.33; IQR: da 0.10 a 0.48; DeltaHTR mediano normale= 0.01; IQR: da -0.03 a 0.03; Tabella 10; Figura 19). In 13 gravidanze diabetiche i neonati sono macrosomi ed in questi casi, se paragonati con i non-macrosomi, il deficit nel volume placentare e l'incremento nell'HTR sono significativamente maggiori (DeltaPV mediano diabete macrosomia=-24.07; IQR: da -30.97 a -15.55; DeltaPV mediano diabete non-macrosomia= -11.92; IQR: da -23.01 a -6.76; $p=0.005$; DeltaHTR mediano diabete macrosomia=0.62; IQR: da 0.46 a 0.98; DeltaHTR mediano diabete non-macrosomia=0.23; IQR: da -0.09 a 0.39; $p<0.001$; Tabella 11). Diversamente, volume fetale ($p=0.432$), volume della testa ($p=0.998$) e volume del tronco ($p=0.106$) non sono significativamente diversi tra i due gruppi (Tabella 11).

Nel gruppo con PGDM l'analisi di regressione ha inoltre dimostrato una correlazione significativa tra centile di peso alla nascita e rapporto volume della testa/tronco fetale ($r=0.387$, $p=0.006$; Figura 22), ma non delta CRL ($p=0.317$), delta volume totale ($p=0.643$), delta volume della testa ($p=0.309$), delta volume del tronco ($p=0.555$), delta volume placentare ($p=0.404$; Tabella 12). Nel gruppo normale l'analisi di regressione non ha dimostrato alcuna correlazione significativa tra le varie misure 3D ed il centile di peso alla nascita, rispettivamente (Tabella 12).

L'analisi di regressione relativa a HV e TV per CRL, nel gruppo diabetico ed a delta HV e delta TV in entrambi i gruppi ha dimostrato una correlazione significativa tra le misure in oggetto e CRL fetale, ad eccezione del volume del tronco fetale nel gruppo

diabetico in cui, consistentemente con i risultati precedentemente esposti, questa correlazione non è stata statisticamente significativa (Figura 19):

Gruppo diabetico:

Volume della testa fetale (mL) = $-17.115 + 0.444 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.899$, $p<0.001$

Volume del tronco fetale (mL) = $-13.691 + 0.352 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.806$, $p<0.001$

Analisi dei delta:

Non diabetici:

Delta volume della testa fetale = $-4.008 + 0.065 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.084$, $p=0.023$

Diabetici:

Delta volume della testa fetale = $-3.877 + 0.071 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.109$, $p=0.011$

Non diabetici:

Delta volume del tronco fetale (mL) = $-4.389 + 0.071 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.081$, $p=0.025$

Diabetici:

Delta volume del tronco fetale (mL) = $-2.979 + 0.023 * \text{CRL (mm)}$; $R^2=0.009$, $p=0.460$

Tabella 4. Confronto della caratteristiche demografiche nel gruppo normale ed in quello diabetico

	Normali (n=50)	Diabete (n=50)
Età (anni)	33.0 (20.0-42.0)	36.5 (25.0-42.0)*
Pluripare	13 (26.0%)	19 (38.0%)
Body mass index (kg/m ²)	20.8 (17.0-31.2)	22.3 (18.0-31.1)*
Fumatrici	5 (10.0%)	7 (14.0%)
Epoca gestazionale allo studio (giorni)	86 (77-96)	84 (77-99)
Epoca gestazionale al parto (settimane)	40 (37-41)	37.0 (28-40)**
Peso alla nascita (centile)	(7.1-92.9)	83.6 (10.6-100)**

Dati espressi come mediana (range) o numero (%). Confronti tra il gruppo diabetico e quello normale mediante Mann Whitney U-test per variabili continue e mediante Chi-square per variabili categoriche. *p<0.05; **p<0.001

Tabella 5. Analisi delle variabili continue dello screening del primo trimestre. Differenze medie dei Delta values dalla media normale di crown rump length (CRL), translucenza nucale (NT), multipli della mediana delle sub unità β della gonadotropina corionica (MoM free- β hCG), multipli della mediana della proteina A gestazionale (MoM PAPP-A) in feti di madri diabetiche, in controlli normali e confronto tra i due gruppi.

Misurazioni	Mediane del gruppo diabetico (IQR)	Mediane dei controlli normali (IQR)	Mann-Whitney U test
Delta CRL ^o (mm)	-0.491 (-3.14 a 1.64)	0.312 (-2.48 a 2.02)	p=0.240
Delta NT ^o (mm)	0.02 (-0.10 a 0.30)	0.10 (-0.31 a 0.45)	p=0.521
MoM Free β hCG*	1.15 (0.63 a 1.58)	1.03 (0.43 a 1.49)	p=0.374
MoM PAPP-A*	1.01 (0.41 a 1.32)	1.01 (0.52 a 1.39)	p=0.725

^oN=50

*N=35 (pazienti che hanno acconsentito ad effettuare i dosaggi ormonali)

Tabella 6. Analisi delle variabili categoriche dello screening del primo trimestre: osso nasale, rigurgito tricuspide e Doppler del dotto venoso in 50 feti di madri diabetiche, 50 controlli normali e confronto tra i due gruppi.

Reperti	Gruppo diabetico (%)	Gruppo normale (%)	χ^2 test
Osso nasale ipoplasico	1/50 (2%)	0/50 (0)	p=0.317
Rigurgito tricuspide	1/50 (2%)	0/50	p=0.317
Dotto venoso con onda A reverse	13/50 (26%)	2/50 (4%)	p<0.001*

*significatività statistica

Tabella 7. Analisi delle likelihood ratios e relativi intervalli di confidenza non parametrici (95% np CI) per diversi pattern flussimetrici del dotto venoso ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane, nel nostro gruppo di feti

Gruppi	Onda A reverse		Onda A normale		χ^2 test
	N/totale (%)	LR+ (95% np CI)	N/totale (%)	LR- (95% np CI)	
Diabete vs normali	13/50 (26.0) vs 2/50 (4.0)	6.50 (1.55-27.33)*	37/50 (74) vs 48/50 (96)	0.50 (0.37-0.69)*	p<0.001*
Diabete LGA vs diabete no-LGA	7/13 (53.8) vs 6/37 (16.2)	3.32 (1.37-8.08)*	6/13 (46.2) vs 31/37(83.8)	0.30 (0.12-0.73)*	p=0.008*
Diabete-LGA vs normali	7/13 (53.8) vs 2/50 (4.0)	7.00 (3.05-16.07)*	6/13 (46.2) vs 48/50 (96)	0.14 (0.06-0.21)*	p<0.001*

*significatività statistica

Tabella 8. Differenze nel TEI index del cuore di sinistra a 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane tra 50 feti normali e 50 feti di madre diabetica e tra diabetici LGA e diabetici non LGA.

	Mediana in 50 normali (IQR)	Mediana in 50 diabetici (IQR)	Mann-Whitney U test	Mediana in 13 macrosomi (IQR)	Mediana in 37 non macrosomi (IQR)	Mann-Whitney U test
TEI index	0.44 (0.40-0.50)	0.55 (0.46-0.59)	p<0.001	0.60 (0.56-0.66)	0.50 (0.52-0.56)	p<0.001

*significatività statistica

Tabella 9. Differenze nella concentrazione di HbA1c nel gruppo diabetico a 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane e nel secondo trimestre con relativi Delta.

Misurazioni HbA1c	Mediana in 13 macrosomi (IQR)	Mediana in 37 non-macrosomi (IQR)	Mann-Whitney U test
Periconcezionale	7.2 (6.85 a 7.85)	6.8 (6.45 a 7.95)	p=0.293
Allo studio	6.9 (6.45 a 7.35)	6.5 (6.00 a 7.50)	p=0.187
Delta I trimestre	-0.2 (-0.7 a 0.2)	-0.4 (-0.9 a -0.2)	p=0.287
Secondo trimestre	6.6 (6.5 a 7.15)	6.3 (5.60 a 6.80)	p=0.014*
Delta II trimestre	- 0.1 (-6.5 a 0.2)	-0.3 (-0.8 a 0.01)	p=0.210

Tabella 10: Differenze nei Valori Delta di crown rump length (CRL), volume della testa fetale e del tronco, e volume del tronco, volume della testa, rapporto testa/tronco e volume della placenta in 50 feti di madri diabetica ed in 50 controlli normali

Misurazioni	Valore Delta mediano del gruppo diabetico (IQR)	Valore Delta mediano del gruppo normale (IQR)	Mann-Whitney U test
CRL	-0.49 (-3.14 a 1.69)	0.31 (-2.48 a 2.02)	p=0.240
Volume fetale	-1.57 (-3.73 a 1.03)	-0.20 (-3.32 a 2.92)	p=0.072
Volume della testa	0.14 (-1.04 a 1.41)	0.01 (-1.59 a 1.25)	p=0.521
Volume del tronco	-1.86 (-2.86 a -0.20)	0.11 (-1.69 a 1.55)	p<0.001*
Rapporto Testa/tronco	0.33 (0.10 a 0.48)	-0.01 (-0.03 a 0.03)	p<0.001*
Volume placentare	-15.69 (-25.31 a -8.35)*	1.63 (-4.58 a 4.79)	p<0.001*

* Significatività statistica.

Tabella 11: Differenze nei Valori Delta del gruppo dei diabetici che hanno sviluppato macrosomia neonatale rispetto a quelli che non l'hanno sviluppata, relativamente a CRL, volume fetale, volume della testa, volume del tronco, rapporto testa/tronco e volume della placenta,

Misurazioni	Valore Delta mediano in 13 macrosomi (IQR)	Valore Delta mediano in 37 non-macrosomi (IQR)	Mann-Whitney U test
Crown rump lenght	-1.06 (-4.16 a 1.08)	0.2 (-2.77 a 1.70)	p=0.619
Volume fetale	-0.35 (-2.87 a 0.13)	-0.61 (-1.66 a 0.83)	p=0.432
Volume della testa	0.84 (0.49 a 2.11)	0.39 (-0.38 a 0.39)	p=0.998
Volume del tronco	-2.31 (-4.09 a -0.98)	-0.73 (-1.81 a -0.66)	p=0.106
Rapporto testa/tronco	0.62 (0.46 a 0.98)	0.23 (0.09 a 0.39)	p<0.001*
Volume placentare	-24.07 (-30.97 a -15.55)	-11.92 (-23.01 a -6.76)	p=0.005*

* Significatività statistica.

Tabella 12: Previsione del centile di peso alla nascita nel gruppo normale ed in quello diabetico in base agli studi di regressione delle variabili continue dello studio

Misurazioni	Normale		Diabete	
	r	p	r	p
Delta crown-rump length (mm)	-	0.175	-	0.317
Delta translucenza nucale (mm)	-	0.509	-	0.947
Free-βhCG (MoM)	-	0.605	-	0.689
PAPP-A (MoM)	-	0.547	-	0.598
Delta Volume fetale (mL)	-	0.746	-	0.643
Delta Volume della testa fetale (mL)	-	0.880	-	0.309
Delta Volume del tronco fetale (mL)	-	0.153	-	0.555
Delta Rapporto testa/tronco fetale	-	0.487	0.387	0.006
Delta Volume Placentare (mL)	-	0.920	-	0.326
Indice di performance miocardica (msec)	-	0.936	-	0.490
HbA1c periconcezionale (%)	-	-	-	0.211
HbA1c allo studio (%)	-	-	-	0.149
HbA1c II trimestre (%)	-	-	0.548	<0.001

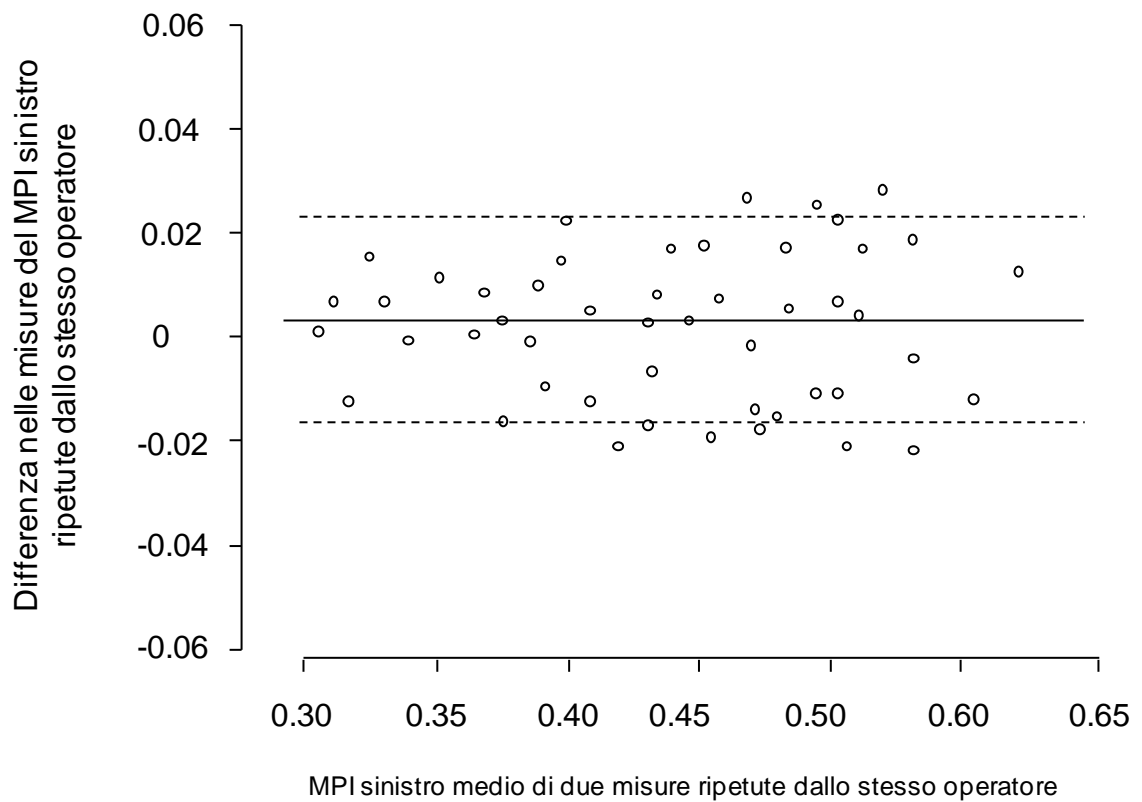
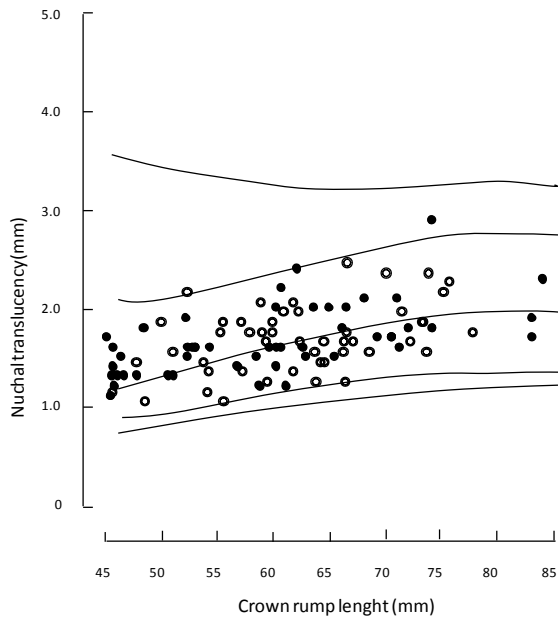
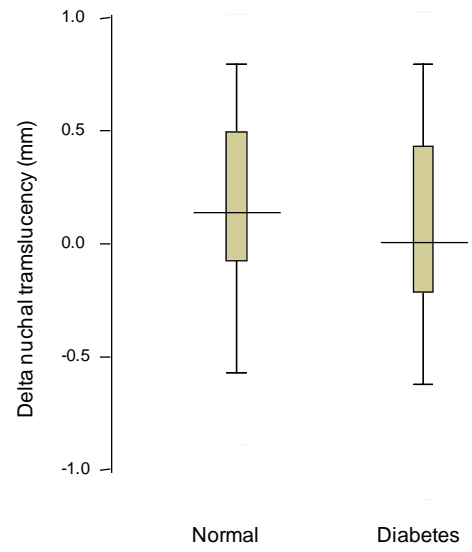


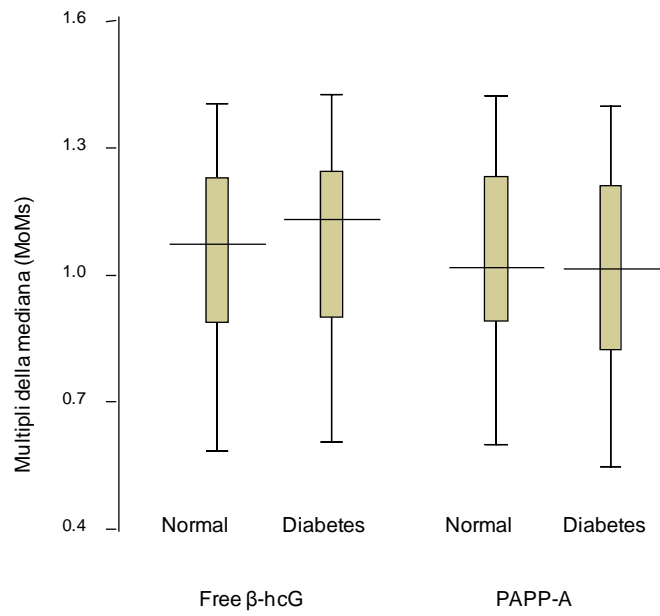
Figura 12: Differenze medie dell'indice di performance miocardica del cuore di sinistra fetale relative a misurazioni appaiate e consecutive di un singolo operatore in feti normali. MPI= indice di performance miocardica del cuore di sinistra. La percentuale di differenza media è inferiore al 5% (linea continua: media; linee spezzate: 95% CI).



A. NT in normali e diabetici

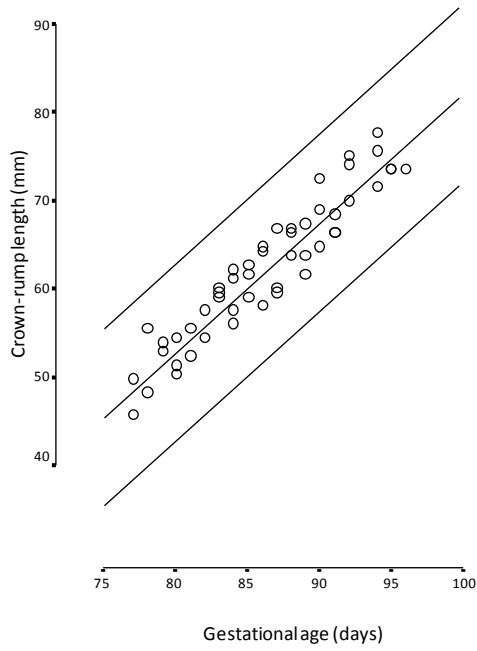


B. Delta NT in normali e diabetici

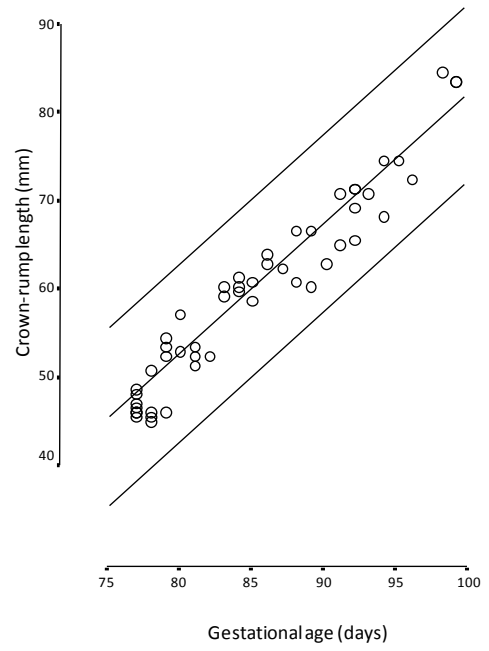


C. Free- β hCG e PAPP-A in normali e diabetici

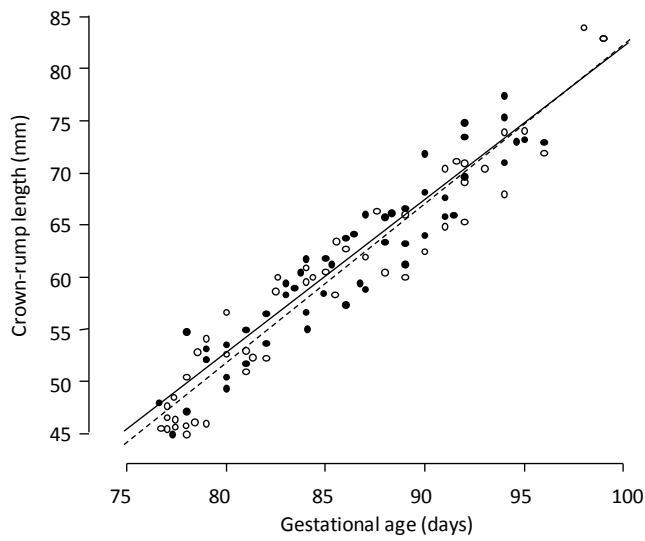
Figura 13: Distribuzione della translucenza nucale (NT) in rapporto al crown rump length (CRL) in 50 feti normali (cerchi vuoti) ed in 50 feti di madre diabetica (cerchi pieni) in relazione alle curve della popolazione normale, con rispettivi centili (1°,5°,50°,95°,99°; grafico A). Delta della translucenza nucale (deltaNT;grafico B). Le curve di regressione in oggetto e le equazioni per il calcolo del valore atteso sono tratti da uno studio di Wright and Nicolaides su circa 37000 gravidanze normali.¹⁹⁹ Multipli della mediana (MoMs) di free-βhCG e PAPP-A in 35 feti normali ed in 35 feti di madre diabetica (grafico C). Le differenze mediane dei deltaNT e dei MoMs di free-βhCG e PAPP-A tra la popolazione normale e diabetica non sono statisticamente significative.



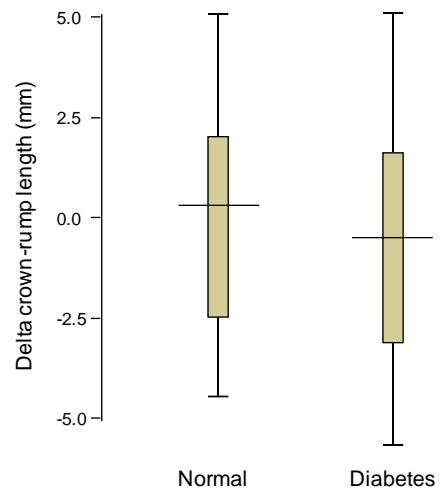
A. CRL normali



B. CRL diabetici

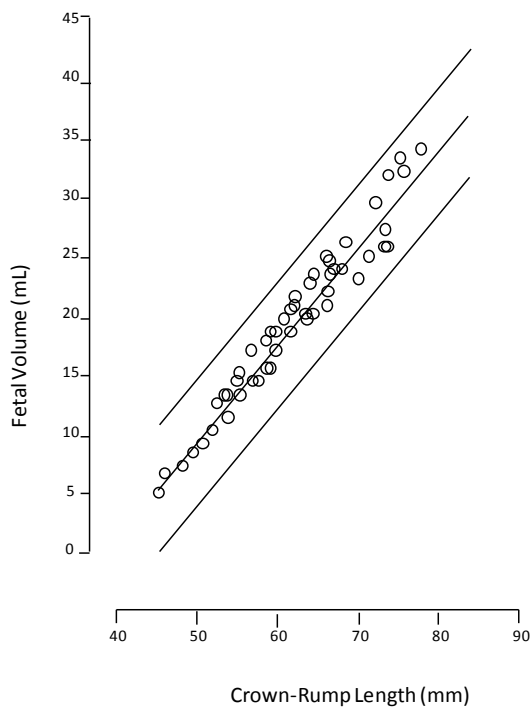


C. Curve di regressione del CRL per epoca gestazionale in normali e diabetici

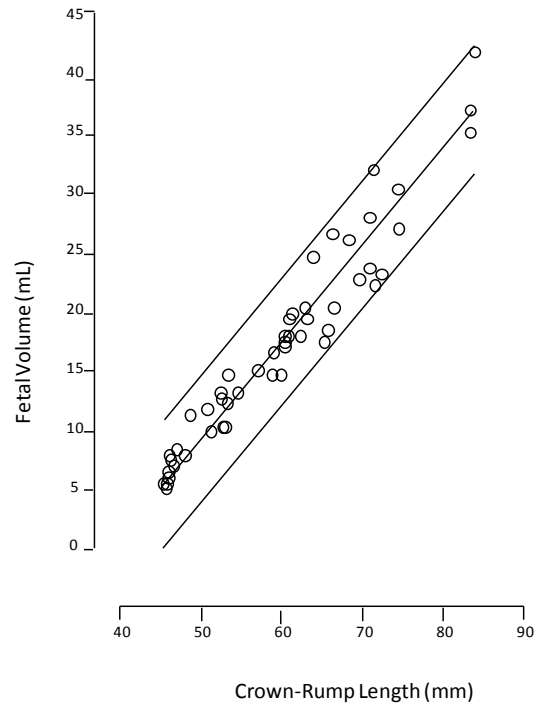


D. Delta CRL in normali e diabetici

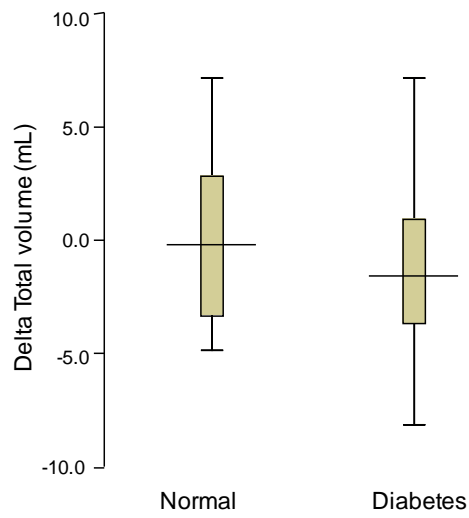
Figura 14: Crown Rump Length (CRL) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per epoca gestazionale precedentemente ottenute in uno studio di 400 feti normali (grafico A). CRL in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle stesse curve di regressione della popolazione normale per epoca gestazionale (grafico B). Curve di regressione del CRL per epoca gestazionale in gravidanze con diabete pregestazionale (cerchi bianchi) e gravidanze normali (cerchi neri); linea spezzata: curva di regressione del gruppo diabetico; linea continua: curva di regressione dei controlli normali (grafico C). Delta CRL nel gruppo normale e nel gruppo diabetico con mediane ed interquartile ranges (grafico D).



A. Volume fetale normali

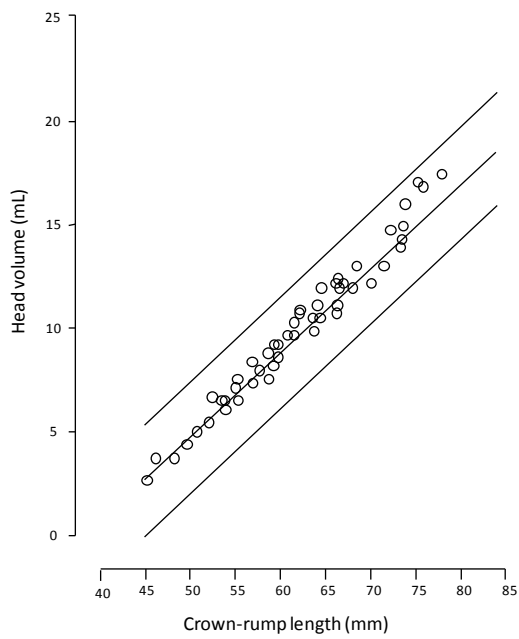


B. Volume fetale diabetici

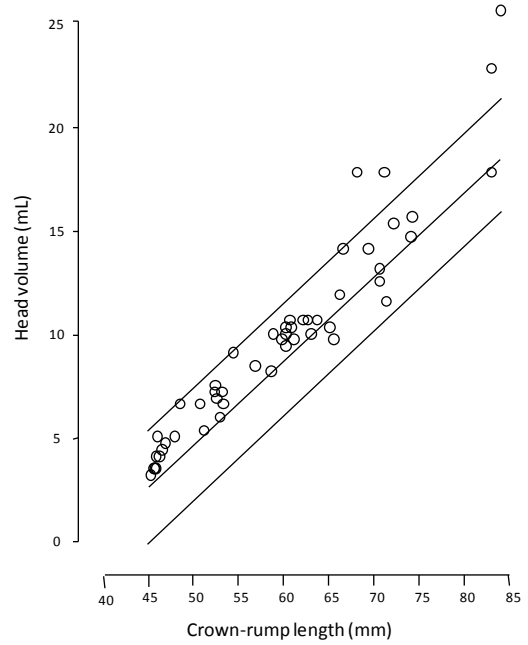


C. Delta volume fetale in normali e diabetici

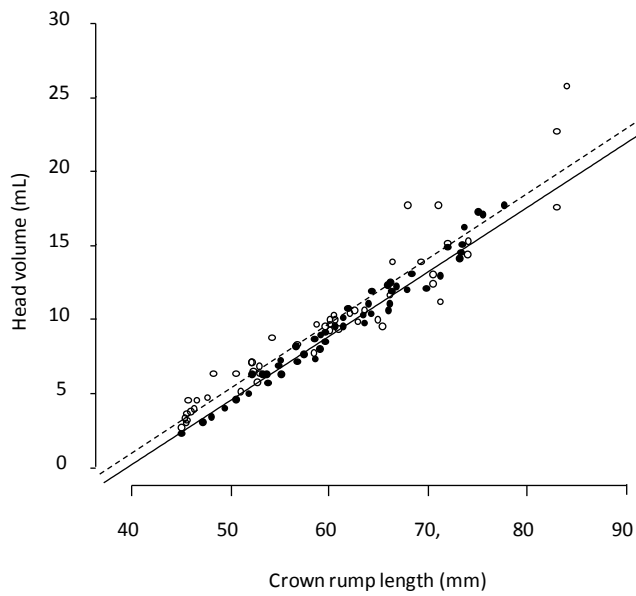
Figura 15: Volume di testa e tronco fetali (FV) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL precedentemente ottenute in uno studio di 400 feti normali (grafico A). FV in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle stesse curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico B). Delta volume fetale in normali e diabetici con mediane ed interquartile ranges (grafico C).



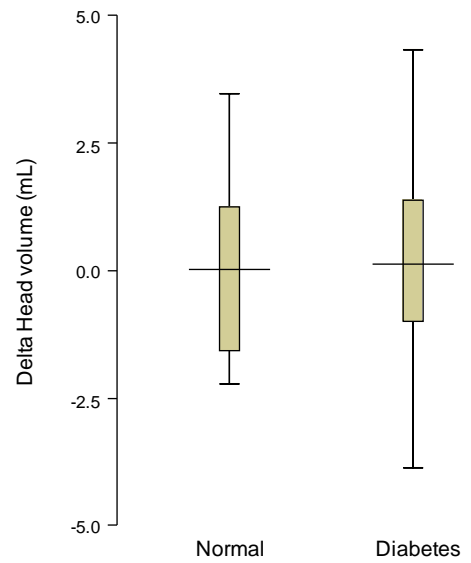
A. Volume della testa fetale normali



B. Volume della testa fetale diabetici

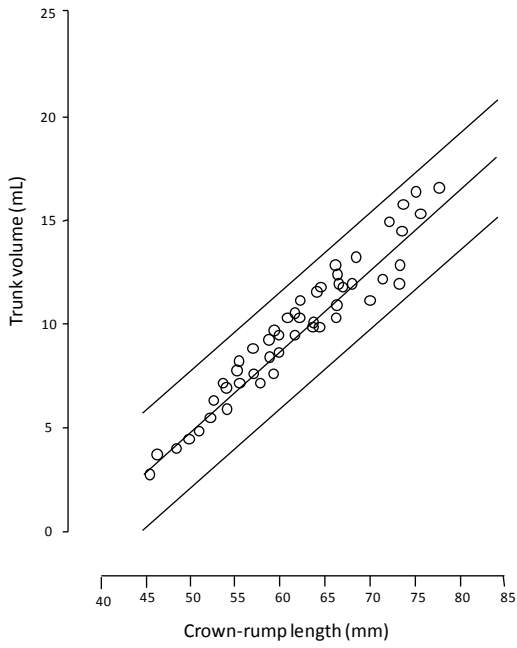


C. Curve di regressione del volume della testa fetale per CRL in normali e diabetici

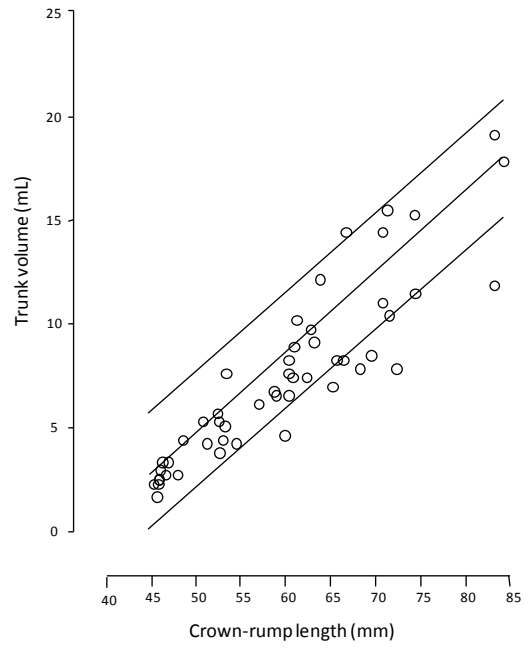


C. Delta volume della testa fetale in normali e diabetici

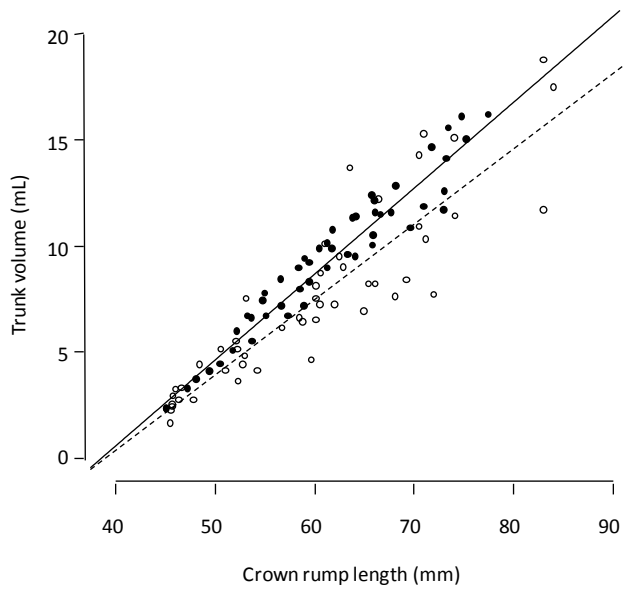
Figura 16: Volume della testa fetale (HV) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico A). HV in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico B). Relazione tra HV ed epoca gestazionale in gravidanze con diabete pregestazionale (cerchi bianchi) e gravidanze normali (cerchi neri); linea spezzata: curva di regressione del gruppo diabetico; linea continua: curva di regressione dei controlli normali (grafico C). Delta volume della testa fetale in normali e diabetici con mediane ed interquartile ranges (grafico D).



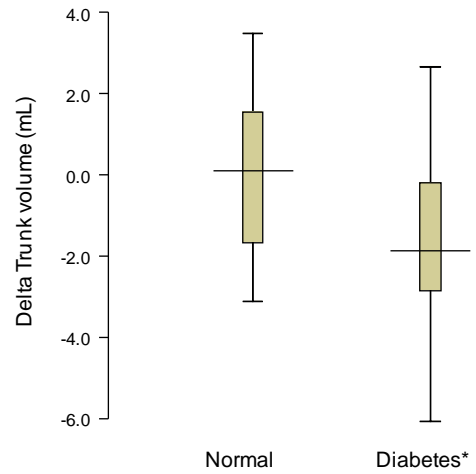
A. Volume del tronco fetale normali



B. Volume del tronco fetale diabetici

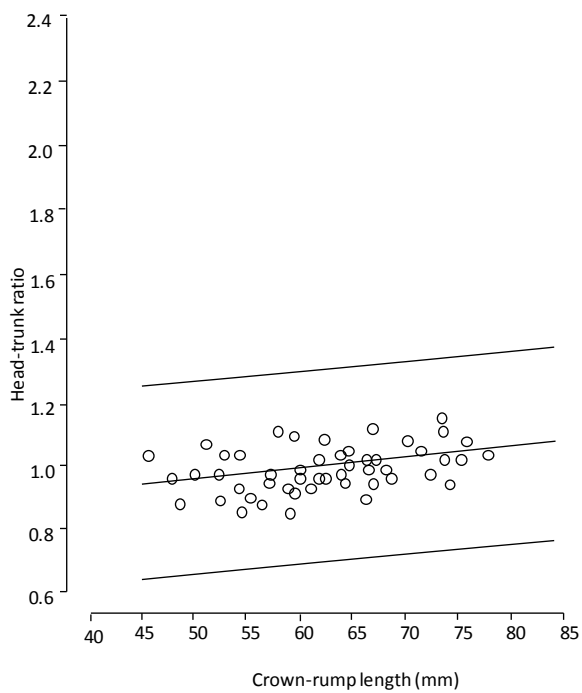


C. Curve di regressione del volume della tronco fetale per CRL in normali e diabetici

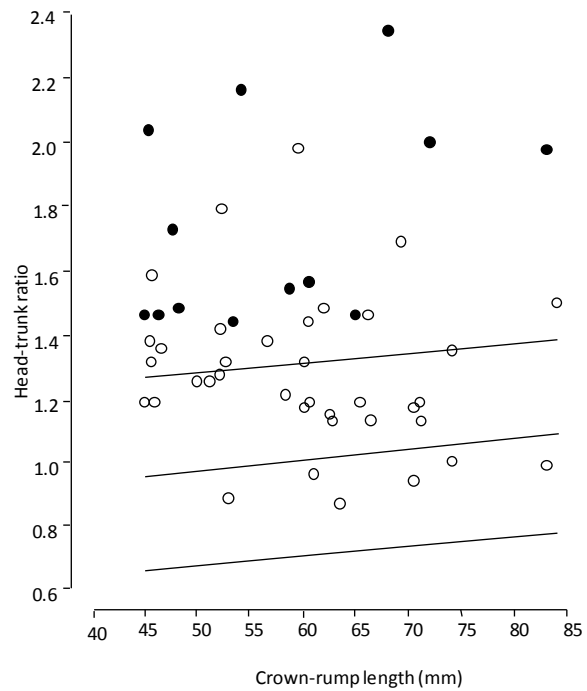


C. Delta volume del tronco fetale in normali e diabetici

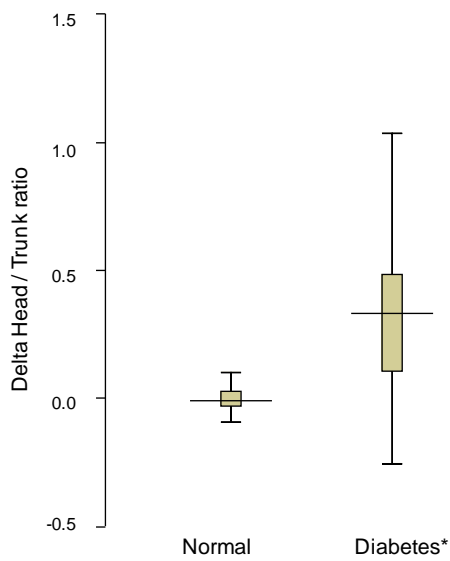
Figura 17: Volume del tronco fetale (TV) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico A), e TV in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico B). Relazione tra TV ed epoca gestazionale in gravidanze con diabete pregestazionale (cerchi bianchi) e gravidanze normali (cerchi neri); linea spezzata: curva di regressione del gruppo diabetico; linea continua: curva di regressione dei controlli normali (grafico C). Delta volume del tronco fetale in normali e diabetici con mediane ed interquartile ranges (grafico D).



A. Rapporto testa/tronco fetale normali

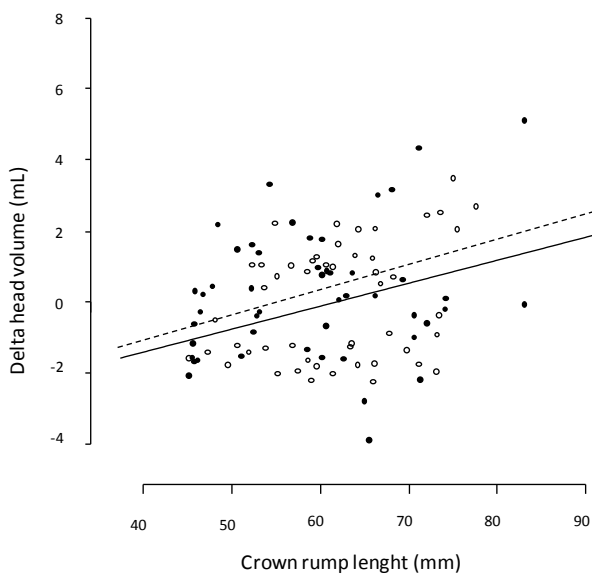


B. Rapporto testa/tronco fetale diabetici

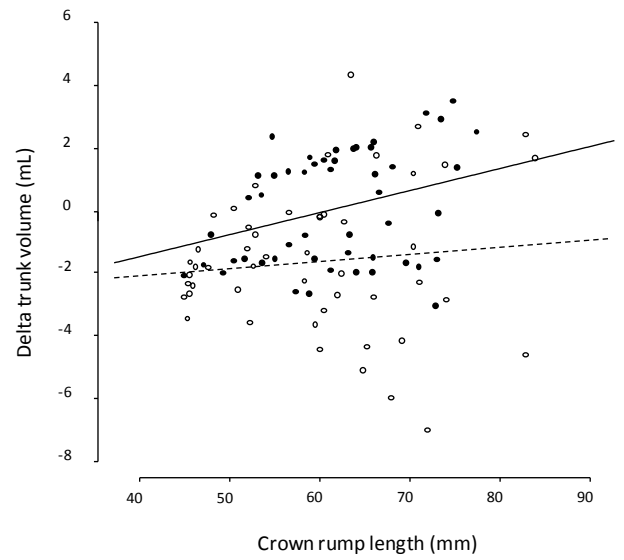


C. Delta rapporto testa/tronco fetale in normali e diabetici

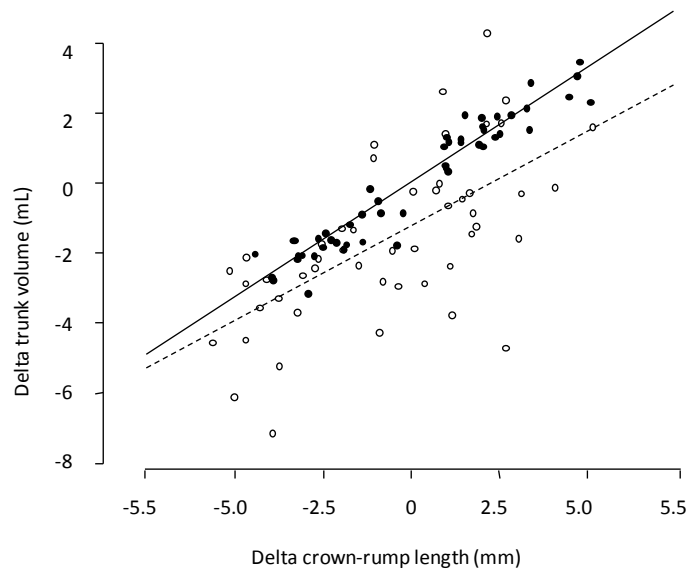
Figura 18: Rapporto tra volume della testa e tronco fetale (HTR) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico A). HTR in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL con dimostrazione dei feti non-macrosomi alla nascita (cerchi bianchi) e feti macrosomomi alla nascita (cerchi neri), (grafico B). Delta del rapporto testa/tronco fetale in normali e diabetici con mediane ed interquartile ranges (grafico C).



A. Curve di regressione delta volume della testa fetale per CRL

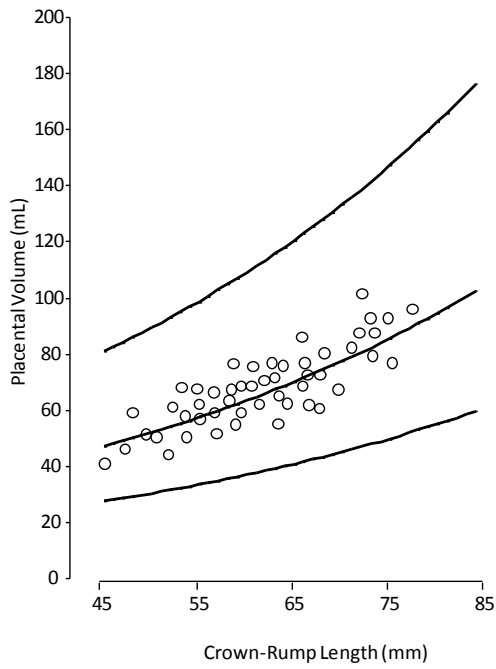


B. Curve di regressione delta volume del tronco fetale per CRL

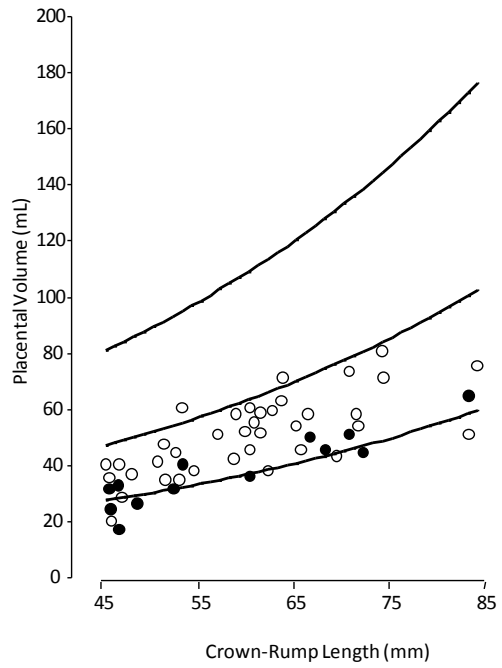


C. Curve di regressione delta volume del tronco fetale per delta CRL

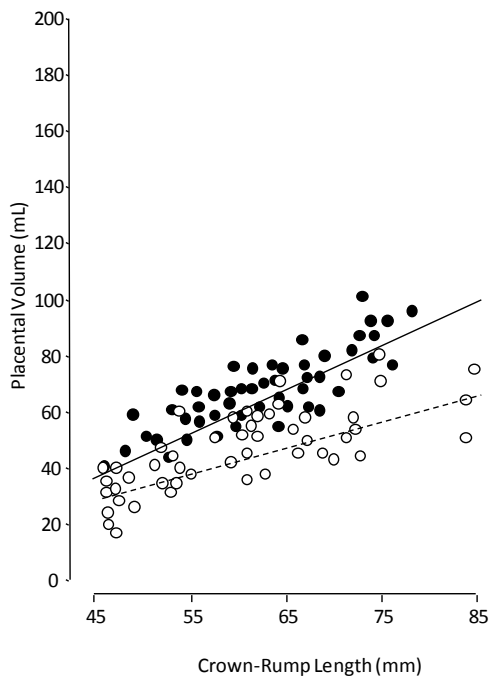
Figura 19. Curve di regressione dei delta volume della testa (grafico A) e del tronco fetale (grafico B) per CRL e delta volume del tronco fetale per delta CRL (grafico C) in gravidanze con diabete pregestazionale (cerchi bianchi) e gravidanze normali (cerchi neri); linee spezzate: curve di regressione del gruppo diabetico; linee continue: curve di regressione dei controlli normali.



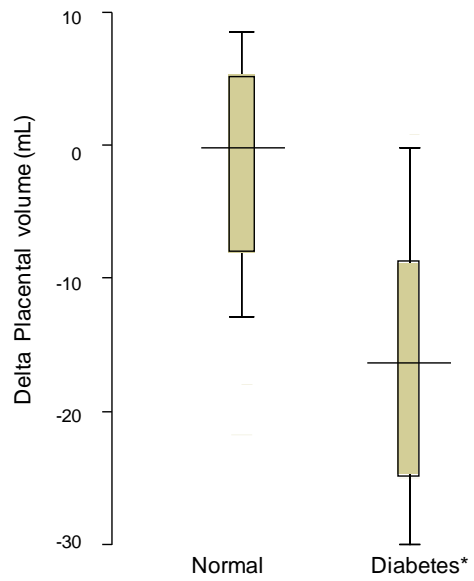
A. Volume placentare normali



B. Volume placentare diabetici



C. Curve di regressione del volume placentare per CRL in normali e diabetici



D. Delta volume placentare in normali e diabetici

Figura 20: Volume della placenta (PV) in 50 feti normali in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL (grafico A). PV in 50 feti di madre diabetica in rapporto alle curve di regressione della popolazione normale per CRL con dimostrazione dei feti non-LGA (cerchi bianchi) e feti LGA (cerchi neri); (grafico B). Relazione tra PV ed epoca gestazionale in gravidanze con diabete pregestazionale (cerchi bianchi) e gravidanze normali (cerchi neri); linea spezzata: curva di regressione del gruppo diabetico; linea continua: curva di regressione dei controlli normali (grafico C).

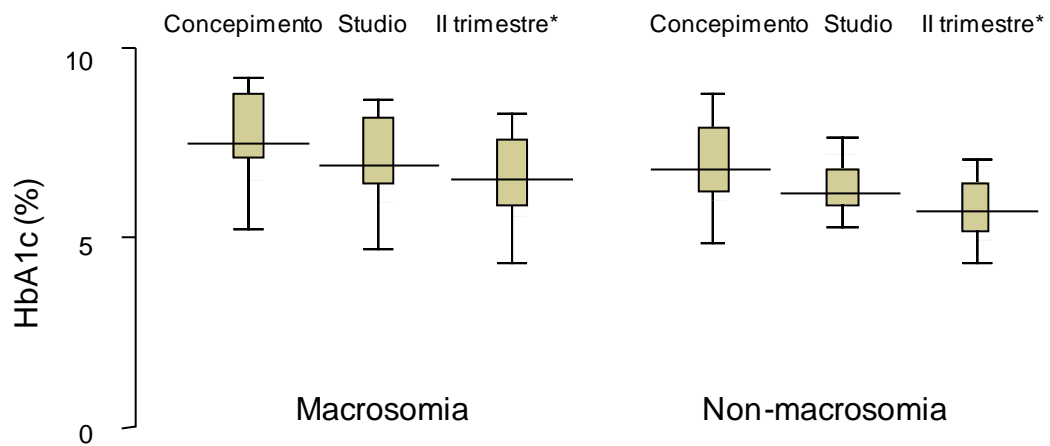


Figura 21: Livelli di HbA1c a diverse epoche gestazionali nei feti del gruppo diabetico con e senza macrosomia alla nascita. HbA1c nel secondo trimestre è significativamente maggiore nel gruppo che sviluppa macrosomia neonatale, mentre alle altre epoche non si riscontrano differenze statisticamente rilevanti.

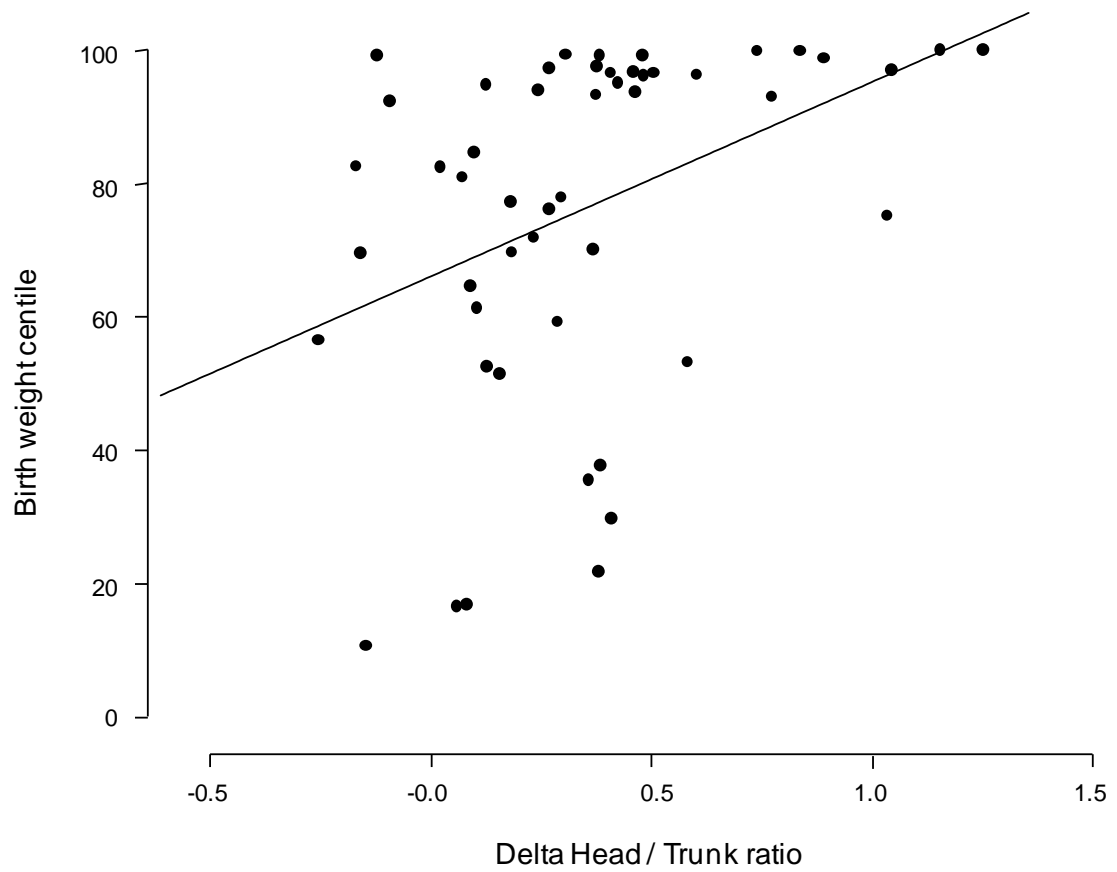


Figura 22: La curva di regressione lineare che correla il rapporto testa/tronco fetale ed il centile di peso alla nascita nel gruppo diabetico ($r^2=0.149$)

10. CONCLUSIONI

I risultati del nostro studio affermano che nel nostro gruppo di diabetiche non ci sono state differenze significative rispetto al normale in merito a parità, fumo di sigaretta epoca gestazionale allo studio, misura della translucenza nucale, presenza dell'osso nasale, rigurgito tricuspide, misura del CRL, volume fetale totale, volume della testa fetale. Diversamente l'età, il BMI, il peso alla nascita ed il rapporto tra volume della testa e tronco fetali sono state maggiori nel gruppo di diabetiche rispetto al normale mentre l'epoca gestazionale al parto, il volume del tronco fetale e della placenta sono state inferiori. HbA1c nel secondo trimestre è stata significativamente maggiore nei feti che hanno sviluppato macrosomia neonatale, mentre questo non si è verificato per HbA1c nel periodo periconcezionale e nel primo trimestre. Infine il dotto venoso ha presentato una maggior probabilità di onda A reverse ed il MPI un valore più alto nel diabete rispetto al normale. Tra le misure effettuate nel primo trimestre ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane il dotto venoso, il MPI, il volume del tronco fetale, il rapporto testa tronco ed il volume placentare hanno presentato differenze significative nei feti che hanno sviluppato macrosomia neonatale rispetto a quelli che non l'hanno sviluppata proponendosi come predittori precoci per questo outcome, diversamente da tutte le altre misure prese in esame. Il rapporto tra testa e tronco fetale si è inoltre dimostrato significativamente correlato con il peso alla nascita.

Una caratteristica peculiare del microcircolo nel diabete mellito è la sua aumentata permeabilità vascolare concomitante ad alte pressioni capillari che, insieme, facilitano l'edema interstiziale locale in organi specifici²⁴³⁻²⁴⁸ Ci sono inoltre alcune evidenze che

nella vita postnatale (dall'età infantile a quella adulta) i soggetti diabetici possano sviluppare accumuli non neoplastici di collagene nella regione nucale. Questo potrebbe essere dovuto a mancato riassorbimento del collagene per ischemia tissutale dovuta ad anomalie del microcircolo oppure ad aumentata deposizione in cui, ancora, i fenomeni descritti di aumentata permeabilità capillare potrebbero avere un ruolo.^{249,250} Pur in presenza di tale base fisiopatologica, che permette di ipotizzare un incremento della traslucenza nucale nel diabete rispetto al normale, esistono studi precedenti che hanno valutato la misura in oggetto nella gravidanza fisiologica ed in quella complicata da diabete mellito, con scarse evidenze a favore di un suo incremento.^{202,203,205,206} Anche i dosaggi sierici materni di free-βhCG e PAPP-A sono stati analizzati in precedenza: una serie di studi riporta una riduzione della PAPP-A di circa il 20%, della free-βhCG del 25% ed altri studi invece non riportano differenze rispetto al normale.^{200,202, 205,206} Esistono anche studi recenti effettuati su estesi gruppi di pazienti che hanno correlato questi parametri con il peso alla nascita nella gravidanza normale (specialmente deltaNT e MoM PAPP-A), ma esistono meno evidenze in questo senso per le gravidanze complicate da diabete^{207-209,242}. In particolare non è stata descritta alcuna correlazione tra spessore della NT e durata del diabete, dose insulinica, concentrazione di HbA1c e livello del controllo glicemico.^{202, 204}

In entrambi i nostri gruppi di feti, l'analisi della correlazione tra delta NT, MoM free-βhCG, MoM PAPP-A e centile di peso alla nascita non ha presentato significatività statistica, inoltre questi valori non sono stati significativamente diversi nel gruppo con diabete rispetto ai controlli normali. Probabilmente nel nostro gruppo normale questi reperto è spiegabile con la scarsa numerosità del campione, in particolare per i dosaggi

biochimici, mentre per il gruppo diabetico è possibile che a determinare queste differenze entrino in gioco anche difformità individuali nella malattia e, ancora in questo contesto, la paucità dei dati non ha permesso una analisi per sottogruppi di gravità del diabete. E' verosimile che un aumento di permeabilità capillare manifesto clinicamente con un incremento della translucenza nucale possa verificarsi solo in casi con scadente controllo metabolico al momento dell'ecografia, ed è pur vero che HbA1c, rappresentando l'espressione del controllo metabolico dei tre mesi precedenti, potrebbe non correlarsi ai reperti ecografici espressione invece di eventi attuali. Inoltre non sappiamo se uno scompenso glicemico determini una permeabilizzazione del microcircolo fetale, nella gravidanza diabetica e con che tempistica. Riteniamo che per rispondere a questi quesiti sia necessario un approfondimento attraverso ulteriore ricerca.

Nessuno studio precedente di cui siamo a conoscenza aveva valutato la presenza e/o l'ossificazione dell'osso nasale in gravidanze complicate da diabete. Pur non essendo a conoscenza di una solida base fisiopatologica per sospettare una differenza di questa struttura nel feto di madre diabetica rispetto al normale, esistono evidenze sperimentali che associano un deficit della osteosintesi e del turnover osseo alle anomalie metaboliche del diabete mellito, e che riportano un deficit nella riparazione del tessuto osseo ed un aumento dell'osteoporosi nel diabete rispetto al normale. Sembra che almeno alcuni di questi effetti siano mediati dall'IGF 1. Al contrario l'analisi dei dati relativi allo studio della massa ossea nel diabete rispetto al normale presentano risultati contrastanti.²⁵¹⁻²⁵⁴ Pertanto ci è sembrato logico verificare che non ci fossero differenze di ossificazione nell'osso nasale tra il normale ed il diabete dal momento che questo

importante parametro è integrato nello screening per anomalie cromosomiche ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane di gravidanza. In effetti i nostri risultati sembrerebbero confermare l'assenza di differenze tra i due gruppi per ciò che riguarda il livello di ossificazione dell'osso nasale, tuttavia in ragione della scarsità dei dati ulteriore ricerca si renderà necessaria per confermare questa conclusione.

L'analisi Doppler ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane ha concluso che il dotto venoso presenta pattern di onda A anomali con maggior frequenza rispetto al normale con una likelihood ratio (LR) di 6.5 per onda A reverse nel diabete rispetto al normale. Analizzando la stessa misura nelle pazienti diabetiche esitate nella nascita di un feto macrosoma con quelle in cui il feto non era macrosoma si è riscontrata una LR di 3.3. Entrambe questi dati hanno presentato significatività statistica dimostrando che la perfusione del dotto venoso è più frequentemente anormale nel diabete ed ancora di più nel diabete che esita in macrosomia fetale alla nascita. Quest'ultima evidenza relativa a dotto venoso e macrosomia non presenta precedenti in letteratura, mentre siamo a conoscenza di una quantità molto limitata di dati per poter confrontare e discutere i nostri dati relativi al confronto tra normali e diabetiche. Recenti evidenze relative al valutazione del Doppler del dotto venoso in termini di indice di pulsatilità venosa (PIV), nella gravidanza con PGDM nel secondo e terzo trimestre riportano una maggior frequenza di esiti avversi nel gruppo con PIV maggiore del 95° percentile per epoca gestazionale. Tuttavia i suddetti studi non hanno indagato l'outcome macrosomia neonatale ma i seguenti esiti avversi: small-for-gestational-age; taglio cesareo per condizioni fetali non rassicuranti, acidemia fetale al parto, basso Apgar score, encefalopatia ipossico-ischemica e morte fetale endouterina.^{194,195} Un altro studio precedente ha valutato la funzione cardiaca a 12

settimane nel diabete mellito e gli autori concludono che i feti di madre diabetica presentano più frequentemente flussi Doppler reverse a livello della vena cava inferiore e pulsatilità a livello della vena ombelicale, sia nel gruppo con buon compenso glicemico che nel gruppo con compenso peggiore e hanno spiegato questi dati in termini di anomala funzione cardiaca nel diabete mellito, sin dal primo trimestre di gravidanza.¹⁹² Tutti questi dati sembrano confermare una atipica perfusione di diversi distretti vascolari venosi probabilmente dovuta ad una anomalia della funzione cardiaca fetale nel diabete mellito rispetto al normale, nel primo così come nel secondo e terzo trimestre di gravidanza. In uno di tali studi l'indice di pulsatilità del dotto venoso ha presentato una correlazione con i valori dell'emoglobina glicosilata e la significatività dell'analisi è stata mantenuta anche estrapolando i casi con restrizione della crescita fetale e pattern flussimetrici anomali a livello dell'arteria ombelicale.¹⁹⁵ Riesaminando i nostri dati alla luce di queste evidenze, è verosimile che queste anomalie della perfusione del dotto venoso possano essere attribuibili ad una anomala funzione cardiaca già evidente ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane, verosimilmente correlabile con l'ambiente intrauterino che caratterizza queste gravidanze. Crediamo che per ciò che riguarda la funzione cardiaca fetale possa entrare in gioco un effetto soglia relativo al compenso metabolico. Infatti è possibile che valori di glicemia normali o leggermente oltre la media non siano in grado di determinare l'insorgenza di un deficit della funzione cardiaca e conseguente onda A reverse a livello del Doppler del dotto venoso. Viceversa, è verosimile che, superata una certa soglia glicemica, con conseguente il blocco della glicolisi aerobia per il deficit di substrati nel ciclo di Krebs ed acidemia, si realizzi il superamento della soglia oltre la quale viene compromessa la contrattilità cardiaca, manifestando le anomalie descritte nel circolo venoso., Tuttavia non è

semplice creare dei criteri per identificare il sottogruppo di feti con scompenso glicometabolico: infatti HbA1c esprime il compenso glicemico dei tre mesi precedenti, le glicemie capillari istantanee materne potrebbero non rappresentare esattamente quelle fetali, almeno nel primo trimestre di gravidanza e mancano dati che esplorino la glicemia fetale nel primo trimestre. Infine non è semplice raccogliere dati quantitativamente sufficienti per una analisi statistica suddividendo il diabete in sottoclassi di gravità, partendo dalle casistiche limitate di un singolo centro.

I principali parametri ecografici oggi disponibili per la valutazione della funzione cardiaca fetale sono: lo studio della frazione di accorciamento ventricolare con M mode o B mode, lo studio del flusso atrioventricolare in termini di rapporto tra onda E ed onda A (E/A ratio), lo studio della forza eiettiva del ventricolo espressa come prodotto tra la gittata cardiaca e la sua accelerazione secondo la legge di Newton, lo studio dell'output cardiaco ovvero del prodotto tra gittata sistolica e frequenza cardiaca ($CO=SV \times FHR$), e le nuove metodiche tra cui lo studio della velocità di propagazione ematica diastolica mediante color M-mode, l'analisi della mobilità delle pareti vascolari, lo studio dei flussi venosi precordiali, l'indice di performance miocardica (MPI), l'analisi del movimento miocardico con Doppler tissutale, lo speckle tracking. Alcune di queste misure sono state testate anche con metodica ecografica 3D-4D, in particolare quelle che implicano la misurazione del volume della gittata sistolica (output cardiaco), tuttavia per una parte di esse mancano dati solidi relativi alla riproducibilità.¹⁸⁶ Nel nostro studio abbiamo deciso di utilizzare l'indice di performance miocardica del cuore di sinistra (MPI; TEI index) in quanto questo metodo rappresenta un sistema semplice per la valutazione sistolica e diastolica di comprovata

riproducibilità. La misura è stata descritta originariamente da Tei nell'adulto ed è successivamente stata validata per il suo utilizzo prenatale nel feto, incluso il primo trimestre di gravidanza in epoca gestazionale simile a quella del nostro studio.^{191,210-219}

La scelta relativa allo studio del MPI del cuore di sinistra, rispetto a quello di destra, è stata dettata, ancora, da dati relativi alla riproducibilità. La posizione anatomica della valvola tricuspide e del tronco polmonare ha reso difficile, se non impossibile, l'ottenimento di entrambe le relative onde Doppler nello stesso tracciato a livello delle scansioni trasverse del torace fetale usualmente utilizzate. Questa difficoltà era stata già riportata da altri autori e l'analisi di due piani separati in due tracciati successivi, con minime differenze nella frequenza respiratoria, cardiaca e nel movimento fetale e materno possono influenzare la misura, con l'ulteriore limitazione di non poter calcolare IRT ed ICT ma poter solo ottenere la somma di questi due.²¹⁴ Altri autori hanno dimostrato di poter ottenere il MPI di destra nello stesso tracciato Doppler in bambini con cuore normale, ma questa metodologia non è stata validata nel feto e potrebbe presentare limitazioni legate al maggior tasso di fallimenti per posizione fetale sfavorevole.²⁵⁶

Uno studio recente effettuato a 13 settimane gestazionali, ha riportato valori di MPI significativamente maggiori nel diabete rispetto al normale e gli autori concludono che le alterazioni della funzione cardiaca possono precedere le alterazioni strutturali riscontrate alla nascita nei feti di madre con PGDM, confermando i risultati del nostro studio.¹⁹³ La possibile spiegazione per queste alterazioni risiede nelle peculiari caratteristiche dell'ambiente intrauterino nelle gravidanze complicate da diabete mellito. L'iperglicemia fetale in fasi precoci di sviluppo, nelle quali il pancreas fetale

non può ancora rispondere con un'iperplasia delle β cellule e conseguente aumentata secrezione insulinica, determina la persistenza dell'ambiente iperglicemico con conseguenze sul metabolismo cellulare ed energetico che, portando come descritto ad acidemia e forse ad ipossiemia, potrebbero favorire processi apoptotici e degenerativi in grado di alterare la funzione cardiaca e la crescita fetale.²⁵⁷

I risultati del nostro studio 3D affermano che sia la crescita fetale che la crescita della placenta sono compromessi nel PGDM tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane. Infatti, il gruppo di feti studiati mostra un incremento del rapporto tra volume della testa e volume del tronco, con volumi del tronco e della placenta globalmente ridotti. Questo suggerirebbe una forma peculiare di ritardo di crescita fetale ad esordio precoce, già evidente ad 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane. In aggiunta questi dati confermano che il rischio di macrosomia-LGA neonatale è aumentato nei feti di madri diabetiche. Inoltre, nella nostra serie di dati, l'entità dell'aumento del HTR, così come la riduzione del volume placentare e di quello del tronco, si sono correlati con lo sviluppo di macrosomia neonatale risultando predittori per questo outcome, seppur con diverso livello di significatività nell'analisi statistica.

La concentrazione dell'emoglobina glicosilata (HbA1c) materna nel primo trimestre di gravidanza nel nostro studio non è risultata significativamente associata a sviluppo di neonati macrosomi. In particolare né le concentrazioni di HbA1c periconcezionale, né tantomeno quelle all'epoca dell'ecografia 3D si sono dimostrate predittive di macrosomia neonatale. Il delta HbA1c I e II trimestre sono risultati in media negativi nel gruppo diabetico, dimostrando un miglioramento del compenso glico-metabolico nel corso

della gravidanza. La nostra spiegazione per questi risultati è attribuibile al fatto che l'emoglobina glicosilata rispecchia il compenso glicemico di diverse settimane antecedenti il dosaggio stesso, fino a tre mesi, quindi la concentrazione di HbA1c nel secondo trimestre rappresenta il compenso glicemico del primo trimestre, quella del primo trimestre si riferisce al compenso periconcezionale, e quest'ultima a quello dei tre mesi precedenti la gravidanza. La significatività dei nostri dati a 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane è quindi associata a significative differenze nel compenso glicemico che però si rivelano solo al dosaggio di HbA1c del secondo trimestre, pur in presenza di un delta negativo. Questo dati potrebbero confermare la rilevanza del ricercare nuovi metodi di valutazione della glicemia (es. escursioni glicemiche, glicemie istantanee) più dei valori assoluti per prevedere precocemente complicanze quali la macrosomia neonatale.

A differenza dei feti macrosomi di madri non-diabetiche nei quali la macrosomia è già stata dimostrata a 11-14 settimane, nei nostri feti, il deficit nel volume fetale, del tronco e della placenta con un aumento del volume della testa del feto, suggerisce un diverso meccanismo patogenetico.²⁰⁹ Nel gruppo dei diabetici abbiamo osservato un deficit dell'1% nella lunghezza mediana del CRL, del 3% nella misurazione del volume complessivo di testa e tronco fetale, un inferiore al 10% nel volume della testa fetale, un deficit del 15% nel volume del tronco che, quindi, determina un aumento mediano del rapporto testa/tronco del 35%. La placenta, inoltre, ha dimostrato un deficit volumetrico mediano inferiore al 30% nello stesso gruppo. Sebbene questi risultati non descrivono una forma classica di ritardo della crescita fetale, noi ipotizziamo che essi potrebbero rappresentare l'espressione di una forma peculiare di ritardo asimmetrico della crescita fetale ad esordio precoce, tipica per quest'epoca dei feti di madri diabetiche.

I feti macrosomi di madri diabetiche presentano placente di grandi dimensioni e hanno un tessuto adiposo sottocutaneo più spesso alla nascita.¹⁰⁸ Per questo motivo, le nostre conclusioni di un volume placentare ridotto e di un aumentato HTR potrebbero sembrare contraddittorie. La possibile spiegazione dei nostri risultati risiede, ancora, nelle caratteristiche dell'ambiente diabetico durante le prime fasi dello sviluppo. Infatti, studi nel modello animale hanno dimostrato che l'iperglicemia compromette la crescita embrionaria con sviluppo ritardato del sacco vitellino, della placenta e del fegato fetale.²⁵⁸⁻²⁶⁰ Inoltre, l'esposizione a segnali di stress metabolico, tra cui l'iperglicemia materna e la deplezione aminoacidica, ha dimostrato di essere in grado di produrre effetti dannosi sull'embrione come ad esempio compromettendo precocemente la proliferazione embrionaria, inducendo l'espressione di geni che codificano per l'arresto della crescita e promuovendo la down-regulation di trasportatori facoltativi di glucosio (GLUT).²⁵⁷ Con l'avanzare della gravidanza, ed in particolare nel terzo trimestre, l'iperinsulinemia fetale determina eventualmente macrosomia e placentomegalia attraverso il suo effetto anabolico sull'uptake ed utilizzazione dei nutrienti.^{120,261-264}

L'ambiente metabolico tipico del diabete e l'iperinsulinismo fetale sono associati ad una peculiare deposizione di acidi grassi nel feto così come ad un anomalo metabolismo aminoacidico.^{24,25,41} L'effetto metabolico dell'iperglicemia probabilmente converte i processi che determinano la crescita fetale, da inibitori ad acceleratori aumentando il deposito di tessuto adiposo attorno alle 15-20 settimane, con il conseguente sviluppo dell'iperinsulinemia fetale.¹⁴⁵ E' verosimile che l'adattamento fetale all'iperglicemia coinvolga sia l'iperinsulinemia sia la down-up regulation dei trasportatori della famiglia

GLUT che contribuiscono in modo diverso ai vari stadi dello sviluppo. Nel cervello umano è già stata dimostrata, a differenti epoche gestazionali, un'espressione diversa dei GLUT ed è possibile che questo fenomeno possa agire ad un livello superiore.²⁶⁵

Le proporzioni corporee di questi feti possono variare a seconda dell'epoca di gravidanza, con una tendenza verso una riduzione della crescita dei visceri ed una conservazione della testa e del cervello nelle fasi più precoci e, successivamente, della deposizione di tessuto adiposo principalmente a livello del tronco. Il momento in cui accade tutto questo potrebbe corrispondere al passaggio dalla down-regulation del trasporto del glucosio all'iperinsulinemia.

In uno studio precedente, è criticata la classica relazione tra ritardo di crescita fetale asimmetrico ad esordio tardivo ed insufficienza placentare, così come tra flessione asimmetrica della crescita fetale ad esordio precoce e malformazioni fetali.²²⁸ I nostri dati attuali supportano ulteriormente queste osservazioni: infatti, nel gruppo di studio il ritardo di crescita fetale tende ad essere asimmetrico, pur in epoca precoce ed in assenza di segni di insufficienza placentare classica. Si noti inoltre che l'aumentato HTR nel nostro gruppo di diabetiche è principalmente dovuto ad una riduzione del volume del tronco più che ad un aumento del volume della testa fetale. Un precedente studio ha criticato l'ipotesi di Pedersen dell'early growth restriction nei feti di madri affette da diabete pre-gestazionale, facendo forza su un ritardo medio di circa 4 giorni nella fase follicolare del ciclo mestruale nelle pazienti diabetiche²²⁵. Alla luce dei nostri risultati, non è verosimile che la ritardata ovulazione possa essere l'unica spiegazione per questo pattern di crescita fetale sbilanciata. I nostri feti mostrano caratteristiche che

suggeriscono come esista una peculiare alterazione asimmetrica della crescita ad esordio precoce, probabilmente in relazione con l'ambiente iperglicemico o con altre anomalie metaboliche tipiche del diabete, come esposto nell'introduzione. I nostri dati suggeriscono come l'osservazione di una crescita splanchnica e scheletrica sbilanciata (HTR) sia più rilevante rispetto alla crescita lineare (CRL) nel predire l'outcome in termini di macrosomia neonatale. Questo risultato, probabilmente, spiega risultati contraddittori ottenuti in studi precedenti riguardanti l'early fetal growth nelle PGDM.²²⁰⁻²²⁵ Infatti, il danno che si manifesta coinvolgendo la crescita fetale non coinvolge necessariamente i visceri e lo scheletro nel medesimo tempo e con la stessa gravità in ogni epoca gestazionale: dai nostri dati, la prima componente è più coinvolta della seconda tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane. L'entità della crescita scheletrica a quest'epoca di gravidanza necessiterebbe di ulteriori approfondimenti, dal momento che, nel nostro studio non sono state incluse le misurazioni degli arti fetali. Questo dato è stato studiato in precedenza da Lampl e Jeanty in epoche di gravidanza più avanzate e sembrerebbe esistere, a partire dal secondo trimestre, una crescita sbilanciata tra lo scheletro e i visceri fetali in relazione con l'aumento della glicemia materna.¹⁰⁹ È interessante notare come questi autori abbiano trovato un'associazione tra l'aumento della glicemia materna e l'aumento della circonferenza addominale fetale, femore più corto ed omero più lungo a partire dalla 21 settimana.

Precedenti studi hanno dimostrato la fattibilità della valutazione della massa magra e della massa grassa nel feto e questi risultati rafforzano la necessità di ulteriori indagini scientifiche per poter indagare la relazione tra queste due componenti nel primo trimestre di gravidanza.^{162,165} Infatti, è verosimile che il passaggio da riduzione

asimmetrica della crescita fetale nel primo trimestre a macrosomia asimmetrica nel terzo trimestre attraverso una fase in cui un'attivazione metabolica adattativa aumenti lo sviluppo di tessuto adiposo a discapito di ossa e visceri. Questa ipotesi è supportata da valutazioni postnatali che mostrano un aumento della massa grassa fetale nei neonati di madri diabetiche senza una differenza significativa nella lunghezza corporea totale o nella circonferenza cranica, suggerendo una deposizione non controbilanciata di tessuto adiposo sottocutaneo nei feti esposti a diabete materno.²⁶⁶

Dai nostri risultati emerge che un aumentato HTR e un'associata riduzione della crescita fetale ad esordio precoce, così come un ridotto volume placentare, sarebbero in grado di rappresentare un processo adattativo precoce del feto nei confronti dell'ambiente diabetico. Inoltre, questi feti, sarebbero associati ad un maggior rischio di diventare LGA o macrosomi. Un limite del nostro studio è che non prende in considerazione le differenze tra la concentrazione di HbA1c nel terzo trimestre e le classi di White e questo è dovuto alle piccole dimensioni del campione in analisi.

Se i nostri dati verranno confermati, sarà necessario accertare se i fattori prognostici proposti siano indipendenti, al fine di poter analizzare un campione più numeroso utilizzando una combinazione di misurazioni Doppler, 3D, classi di White e valori di HbA1c. Sono necessari ulteriori studi ecografici degli stadi precoci dello sviluppo dei feti di madri diabetiche per chiarire il pattern di crescita fetale nel primo trimestre e per capire le relazioni tra la crescita fetale precoce e tardiva. Inoltre, sono necessari studi in grado di valutare nuovi fattori prognostici per l'outcome LGA-macrosomia fetale, al

fine di prevenire l'aumento di queste complicanze, eventualmente fornendo ulteriori informazioni circa il controllo metabolico.

Nei nostri dati, i feti di madri PGDM che abbiamo esaminato hanno, tra le 11⁺⁰ e le 13⁺⁶ settimane, presentano un incremento del MPI, e di onde A reverse nel dotto venoso, un volume placentare ridotto e uno sviluppo corporeo asimmetrico con un aumentato HTR, mostrando aspetti compatibili con un early growth delay associato ad anomalia della funzione cardiaca e della perfusione venosa. L'analisi degli esiti fetali mostra che un aumento dell'HTR al superiore ad 1.4 ed un deficit di volume placentare superiore al 40% sono frequentemente associati allo sviluppo di macrosomia neonatale.

Ci aspettiamo che lo screening precoce e l'individualizzazione dei trattamenti possa contribuire al miglioramento del controllo glico-metabolico nelle pazienti affette da PDGM, in particolare in quelle ad alto rischio. Questo potrebbe condurre all'utilizzo di metodiche sperimentali concentrando le risorse umane ed economiche sui casi con rischio maggiore, portando, magari, ad una riduzione del rischio di sviluppare macrosomia e complicanze ad essa correlate sia alla nascita sia a lungo termine nella vita postnatale.^{95-97,123} Comunque, rimane ancora da determinare il grado di applicazione di queste misurazioni nella pratica clinica ed il punto di debolezza delle misure Doppler e 3D è la loro riproducibilità. Esse è accettabile solo in mani esperte e per operatori con un training adeguato, quindi probabilmente, queste misure mal si prestano ad una diffusione su larga scala. Questo potrà essere oggetto di studi futuri con campioni di pazienti più numerosi. Successive ricerche saranno necessarie per testare

nuovi metodi di monitoraggio ed innovativi approcci terapeutici precoci in quei casi considerati ad alto rischio per un controllo metabolico sub-ottimale e macrosomia.

11. SINOPSI

- *Questo studio dimostra che i feti del nostro gruppo di madri diabetiche non hanno differenze significative rispetto al normale nelle seguenti componenti fondamentali dello screening delle 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane: translucenza nucale, osso nasale, rigurgito tricuspide, dosaggi sierici di free-βhCG e PAPP-A.*
- *L'analisi della funzione del cuore di sinistra fetale (MPI) e del Doppler del dotto venoso del nostro gruppo di feti ha dimostrato una alterazione di queste misure, testimoniata da un incremento significativo del MPI e da una aumentata incidenza di onda A reverse nei tracciati flussimetrici del dotto venoso 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane rispetto al normale. Queste alterazioni sono risultate più frequenti nei feti che hanno sviluppato macrosomia neonatale e pertanto queste misure sono risultate significative predittive per questo outcome.*
- *L'analisi della biometria del nostro gruppo di feti ad 11⁺⁰-13⁺⁶ settimane ha dimostrato un peculiare ritardo di crescita nel primo trimestre di gravidanza rivelato dall'ecografia 3D (TV, HTR) e non dall'ecografia convenzionale (CRL), associato ad un volume placentare (PV) ridotto rispetto al normale*
- *Tale ritardo di crescita fetale precoce è di tipo asimmetrico, come dimostrato da un rapporto aumentato tra volume della testa e volume del tronco (HTR);*
- *Il ridotto volume placentare e l'aumentato rapporto testa-tronco fetale nel primo trimestre si associa ad un rischio aumentato di macrosomia neonatale;*
- *La concentrazione dell'emoglobina glicosilata materna nel primo trimestre di gravidanza non ha dimostrato una predittività nei confronti di macrosomia neonatale, diversamente da quella nel secondo trimestre.*

12. BIBLIOGRAFIA

1. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J: Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414:782-787, 2001.
2. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Meigs JB, Bonadonna RC, Muggeo M: Population-based incidence rates and risk factors for type 2 diabetes in white individuals: the Bruneck study. *Diabetes* 2004; 53:1782-1789.
3. Rewers M, Zimmet P: The rising tide of childhood type 1 diabetes--what is the elusive environmental trigger? *Lancet* 2004; 364:1645-1647,.
4. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2005; 28:S37-S42.
5. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: S5-20.
6. World Health Organization Consultation Group. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1999, Geneva, World Health Organization.
7. Workshop Report. Diabetes care and research in Europe: The Saint Vincent declaration. *Diabet Med* 1990; 7:360.
8. Macintosh MC, Fleming KM, Bailey JA, Doyle P, Modder J, Acolet D, Golightly S, Miller A. Perinatal mortality and congenital anomalies in babies of women with type 1 or type 2 diabetes in England, Wales and Northern Ireland: population based study. *BMJ* 2006;333:177-80.

9. Evers IM, de Valk HW, Visser GHA. Risk of complications in pregnancy in women with type 1 diabetes: nationwide prospective study in the Netherlands. *BMJ* 2004;328:915-9.
10. Jensen DM, Damm P, Moelsted-Pedersen L, Ovesen P, Westergaard JG, Moeller M, Beck-Nielsen H. Outcomes in type 1 diabetes pregnancies. *Diabetes Care* 2004;27:2819-23.
11. Casson IF, Clarke CA, Howard CV, McKendrick O, Pennycook S, Pharoah PO, Platt MJ, Stanisstree M, van Velszen D, Walkinshaw S. Outcomes of pregnancy in insulin dependent diabetic women: results of a five year population cohort study. *BMJ* 1997;315:275-8.
12. Hay Jr WW. Metabolic interrelationships of placenta and fetus. *Placenta* 1995; 16:19-30.
13. Jauniaux E, Gulbis B, Burton GJ. The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus: a review. *Placenta-Trophoblast Res* 2003; 24:S86-S93.
14. Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E. Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies. *Report Biomed Online* 2003; 6:84-96.
15. Watson AL, Palmer ME, Skepper JN, Jauniaux E, Burton GJ. Susceptibility of human placental syncytiotrophoblast mitochondria to oxygen-mediated damage in relation to gestational age. *J Clin Endocrinol Metabol* 1998; 83:1697-1705.
16. Jawerbaum A, Gonzales E. The role of alterations in arachidonic acid metabolism and nitric oxide homeostasis in rat models of diabetes during early pregnancy. *Curr Pharm des* 2005; 11:1327-1342.

17. Mayatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol* 2006; 572: 25-30.
18. Farias M, San martin R, Puebla C, et al. Nitric oxide reduces adenosine transporter ENT1 gene (SLC29A1) promoter activity in human fetal endothelium from gestational diabetes. *J Cell Physiol* 2006; 208:451-60
19. Desoye G, Hofmann HH, Weiss PA. Insulin binding to trophoblast plasma membranes and placental glycogen content in well-controlled gestational diabetic women treated with diet or insulin, in well-controlled overt diabetic patients and in healthy control subjects. *Diabetologia* 1992; 35:45-55.
20. Kalhan SC, D'Angelo LJ, Savin SM, Adam PA. Glucose production in pregnant women at term gestation. Sources of glucose for human fetus. *J Clin Invest* 1979; 63:388-94.
21. Hauguel S, Desmaiziers V, Challier JC. Glucose uptake, utilization, and transfer by the human placenta as functions of maternal glucose concentration. *Pediatr Res* 1986; 20:269-73.
22. Paterson P, Page D, Taft P, Phillis L, Wood C. Study of fetal and maternal insulin levels during labour. *J Obstet Gynecol Br Commun* 1968; 75:917-21.
23. Yudilevich DL, Sweiry JH. Transport of amino acids in the placenta. *Biochem Biophys Acta* 1985; 822:169-201.
24. Cetin I, Nobile de Santis MS, Taricco E, Radaelli T, Teng C, Ronzoni S, Spada E, Milani S, Pardi G. Maternal and fetal amino acid concentrations in normal pregnancies and in pregnancies with gestational diabetes mellitus. *Am J Obst Gynecol* 2005; 192:610-617.

25. Cetin I. Amino acids interconversions in the fetal-placental unit: the animal model and human studies in vivo. *Pediatr Res* 2001; 49:148-54.
26. Hustin J, Schaaps JP. Echographic and anatomic studies of the maternotrophoblastic border during the first trimester of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:162-168.
27. Burton GJ, Jauniaux E, Watson AL. Maternal arterial connection to the placental intervillous space during the first trimester of human pregnancy: the Boyd Collection revisited. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:718-724.
28. Burton GJ, Watson AL, Hempstock J, Skepper JN, Jauniaux E. Uterine glands provide histiotrophic nutrition for the human fetus during the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2954-2959.
29. Barth WH Jr, Genest DR, Riley LE, Frigoletto FD Jr, Benacerraf BR, Greene MF. Uterine arcuate artery Doppler and decidual microvascular pathology in pregnancies complicated by type I diabetes mellitus. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1996 ;8:98-103.
30. Pietryga M, Brazert J, Wender-Ozegowska E, et al. Abnormal uterine Doppler is related to vasculopathy in pregestational diabetes mellitus. *Circulation* 2005; 112:2496-500.
31. Pietryga M, Brazert J, Wender-Ozegowska E, Dubiel M, Gudmundsson S. Placental Doppler velocimetry in gestational diabetes mellitus. *J Perinat Med* 2006; 34:108-10.
32. Benirschke K, Kaufmann P, Baergen R. *Pathology of Human Placenta*, 5th ed. New York: Springer; 2006.
33. Wang Y, Walsh SW & Kay HH. Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167: 946-949.

34. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*, 1996; 19: 257-267.
35. Myatt L, Rosenfield RB, Eis AL, Brockman DE, Greer I & Lyall F. Nitrotyrosine residues in placenta. Evidence of peroxynitrite formation and action. *Hypertension*, 1996; 28: 488-493.
36. Winick M, Noble A. Cellular growth in human placenta. II. Diabetes mellitus. *J Pediatr* 1967; 71:216-9.
37. Hahn T, Barth S, Weiss U, Mosgoeller W, Desoye G. Sustained hyperglycemia in vitro down-regulates the GLUT1 glucose transport system of cultured human term placental trophoblast: a mechanism to protect fetal development? *FASEB J* 1998; 12:1221-31.
38. Hahn T, Hahn D, Blaschitz A, et al. Hyperglycaemia-induced subcellular redistribution of GLUT1 glucose transporters in cultured human term placental trophoblast cells. *Diabetologia* 2000; 43:173-80.
39. Desoye G, Korgun ET, Ghaffari-Tabrizi N, Hahn T. Is fetal microsomia in adequately controlled diabetic women the result of a placental defect? A hypothesis. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002; 11:258-61.
40. Pedersen J. *The pregnant diabetic and her newborn*, 2nd Ed. Munksgaard; Copenhagen: Williams & Wilkins: Baltimore; 211;1977.
41. Jansson T, Cetin I, Powell TL, Desoye G, Radaelli T, Ericsson A, Sibley CP. Placental transport and metabolism in fetal overgrowth-a workshop report. *Placenta*, 2006; 27,S109-113.

42. Jansson T, Ekstrand Y, Bjorn C, Wennergren M, Powell TL. Alterations in the activity of placental amino acid transporters in pregnancies complicated by diabetes. *Diabetes*, 2002; 51:2214-2219.
43. Jansson T, Wennergren M, Powell TL. Placental glucose transport and GLUT 1 expression in insulin-dependent diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 1999;180,163-168.
44. Jansson N, Greenwood S, Johansson BR, Powell TL, Jansson T. Leptin stimulates system A activity in human placental villous fragments. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1205-11.
45. Ericsson A, Hamark B, Powell TL, Jansson T. Glucose transporter isoform 4 is expressed in the syncytiotrophoblast of first trimester human placenta. *Hum Reprod* 2005; 20:521-30.
46. Desoye G, Hartmann M, Blaschitz A, Dohr G, Hahn T, Kohnen G, Kaufmann P. Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for developmental changes in distribution pattern. *Histochemistry* 1994; 101:277-85.
47. Hiden U, Maier A, Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Wadsack C, Lang I, Dohr G, Desoye G. Insulin control of placental gene expression shifts from mother to foetus over the course of pregnancy. *Diabetologia* 2006; 49:123-31.
48. Rye E, Attie C, Bonin A. The effects of the first-trimester diabetes control on the incidence of macrosomia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:202-6.
49. Ericsson A, Saljo K, Jansson N, Sjostrand E, Powell TL, Jansson T. Hyperglycemia in early pregnant rats increases fetal weight and down-regulated System A at term. *Placenta* 2005; 26:A48.

50. Greene MF: Spontaneous abortions and major malformations in women with diabetes mellitus. *Semin Reprod Endocrinol* 1999; 17:127-136.
51. Kitzmiller JL, Gavin LA, Gin GD, Jovanovic-Peterson L, Main EK, Zigrang WD. Preconception care of diabetes: glycemic control prevents congenital anomalies. *East Afr Med J* 1991; 265:731-736.
52. Rosene B, Miodovnik M, Combs CA, Khoury J, Siddiqui TA. Glycemic thresholds for spontaneous abortion and malformations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Obstet Gynecol* 1994; 84:515-520.
53. Evers IM, de Valk HW, Mol BW, Ter Braak EW, Visser GH. Macrosomia despite good glycaemic control in Type I diabetic pregnancy; results of a nationwide study in Netherlands. *Diabetologia* 2002; 45:1484-1489;
54. Johnstone FD, Mao JH, Steel JM, Prescott RJ, Hume R. Factors affecting fetal weight distribution in women with type I diabetes. *Br J Obstet Gynecol* 2000; 107:1001-1006.
55. Schaefer-Graf UM, Heuer R, Kilavuz O, Pandora A, Henricy W, Vetter K. Maternal obesity not maternal glucose values correlates best with high rates of fetal microsomia in pregnancies complicated by gestational diabetes. *J Perinatal Med* 2002; 30:313-321.
56. Ehrenberg HM, Mercer BM, Catalano PM. The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:964-968.
57. Ricart W, López J, Mozas J, Pericot A, Sancho MA, González N, Balsells M, Luna R, Cortázar A, Navarro P, Ramírez O, Flández B, Pallardo LF, Hernández-Mijas A, Ampudia J, Fernández-Real JM, Corcoy R; Spanish Group for the Study of the Impact of Carpenter and Coustan GDM Thresholds. Body mass index has a greater impact on pregnancy outcomes than gestational hyperglycaemia. *Diabetologia* 2005; 48:1736-1742.

58. Kerssen A, de Valk HW, Visser GH. The Continuous Glucose Monitoring System during pregnancy of women with type 1 diabetes mellitus: accuracy assessment. *Diabetes Technol Ther* 6:645-651, 2004.
59. Landon MB, Gabbe SG, Piana R, Mennuti MT, Main EK. Neonatal morbidity in pregnancy complicated by diabetes mellitus: predictive value of maternal glycemic profiles. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156:1089-1095,.
60. Page RC, Kirk BA, Fay T, Wilcox M, Hosking DJ, Jeffcoate WJ. Is macrosomia associated with poor glycaemic control in diabetic pregnancy? *Diabet Med* 1996; 13:170-174.
61. Mello G, Parretti E, Mecacci F, Pratesi M, Lucchetti R, Scarselli G. Excursion of daily glucose profiles in pregnant women with IDDM: relationship with perinatal outcome. *J Perinat Med* 1997; 25:488-497.
62. Mello G, Parretti E, Mecacci F, La Torre P, Cioni R, Cianciulli D, Scarselli G. What degree of maternal metabolic control in women with type 1 diabetes is associated with normal body size and proportions in full-term infants? *Diabetes Care* 2000; 23:1494-1498.
63. Persson B, Hauson U: Fetal size at birth in relation to quality of blood glucose control in pregnancies complicated by pre-gestational diabetes mellitus. *Br J Obstet Gynecol* 1996; 103:427-433.
64. Parfitt VJ, Clark JD, Turner GM, Hartog M. Maternal postprandial blood glucose levels influence infant birth weight in diabetic pregnancy. *Diabetes Res* 1992; 19:133-135.

65. Kyne-Grzebalski D, Wood L, Marshall SM, Taylor R. Episodic hyperglycaemia in pregnant women with well-controlled type 1 diabetes mellitus: a major potential factor underlying macrosomia. *Diabet Med* 1999; 16:702-706.
66. Jovanovic L, Knopp RH, Kim H, Cefalu WT, Zhu XD, Lee YJ, Simpson JL, Mills JL. Elevated pregnancy losses at high and low extremes of maternal glucose in early normal and diabetic pregnancy; evidence for a protective adaptation in diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28:1113-7.
67. Ornoy A, Kimyagarov D, Yaffee P, Abir R, Raz I, Kohen R. Role of reactive species in diabetes-induced embryotoxicity; Studies on preimplantation mouse embryos cultured in serum from diabetic pregnant women. *Isr J Med Sci* 1996; 32:1066-73.
68. Neave C. Congenital malformations in offspring of diabetic. *Perspect Pediatr Pathos* 1984; 8:213-22.
69. Albert-Reece A, Hobbins JC. Diabetic embryopathy: pathogenesis, prenatal diagnosis and prevention. *Obstet Gynecol Survey* 1986; 41:325-35.
70. Miller E, Hare JW, Cloherty JP, Dunn PJ, Gleason RE, Soeldner JS, Kitzmiller JL. Elevated maternal hemoglobin A1c in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *N Engl J Med* 1981; 304:1331-4.
71. Suhonen L, Hiilesmaa V, Teramo K. Glycaemic control during early pregnancy and fetal malformations in women with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2000; 43:79-82.
72. Merlob P, Reisner SH. Fetal effects from maternal diabetes. In: Buyse L, ed. *Birth Defects Encyclopedia*, 1st ed. 700; Cambridge: Blackwell Scientific; 1990. 2nd Ed. Munksgaard; Copenhagen: Williams & Wilkins; Baltimore; 211;1977.

73. Becerra JE, Khoury MJ, Corsero JF, Erickson JD. Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects: a population-based case-control study. *Pediatrics* 1990; 85:1-9.
74. Rowland TW, Hubbell JP, Nadas AS. Congenital heart disease in infants of diabetic mothers. *J Pediatr* 1973; 83:815-20.
75. Loffredo CA, Wilson PD, Ferencz C. Maternal diabetes: an independent risk factor for major cardiovascular malformations with increased mortality of affected infants. *Teratology* 2001; 64:98-106.
76. Kucera J. Rate and type of congenital anomalies among offspring of diabetic mothers. *J Reprod Med* 1971; 7:61-70.
77. Soler NG, Walsh CH, Malino JM. Congenital malformations in infants of diabetic mothers. *Q J Med* 1976; 45:303-13.
78. Nielsen GL, Nørgard B, Puho E, Rothman KJ, Sørensen HT, Czeizel AE. Risk of specific congenital abnormalities in offspring of women with diabetes. *Diabet Med* 2005; 22:693-6.
79. Aberg A, Westbom, Kallen B. Congenital malformations among infants whose mothers had gestational diabetes or preexisting diabetes. *Early Hum Dev* 2001; 61:85-95.
80. Lin HJ, Owens TR, Sinow RM, Fu PC Jr, DeVito A, Beall MH, Lachman RS. Anomalous inferior and superior venae cavae with oculoauriculovertebral defect: review of Goldenhar complex and malformations of left-right asymmetry. *Am J Med Genet* 1998; 75:88-94.

81. Chung CS, Myriantopopulos NC. Factors affecting risk of congenital malformations, II: Effect of maternal diabetes. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1975; 11:23-38.
82. Hod M, Merlob P, Friedman S, Litwin A, Mor N, Rusecki Y, Schoenfeld A, Ovadia J. Prevalence of minor congenital anomalies in newborns of diabetic mothers. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992; 44:111-6.
83. Simpson JL, Elias S, Martin AO, Palmer MS, Ogata ES, Radvany RA. Diabetes in pregnancy, Northwestern University Series (1977-1981), I, Prospective study of anomalies in offspring of mothers with diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 146:263-70.
84. Nielsen GL, Moller M, Sorensen HT. HbA1c in early diabetic pregnancy and pregnancy outcomes. *Diab Care* 2006; 29:2612-2616.
85. Temple RC, Aldridge VJ, Murphy HR. Prepregnancy care and pregnancy outcomes in women with type 1 diabetes. *Diab Care* 2006; 29:1744-1749.
86. Millis JL, Baker L, Goldman AS: Malformations in infants of diabetic mothers occur before seventh gestational week: implications for treatment. *Diabetes* 1979; 28:292-293.
87. Fraser R. Diabetic control in pregnancy and intrauterine growth of the fetus. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:3-5.
88. Wong SF, Chan FY, Cincotta RB, Oats JJN, McIntyre HD. Routine ultrasound screening in diabetic pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 19:171-176.
89. Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer M, VanDorsten JP, MacPherson C, Klebanoff M, Landon M, Miodovnik M, Paul R, Meis P, Dombrowski M, Thurnau G, Roberts J, McNellis D. Risks of preeclampsia and adverse neonatal outcomes among

women with pregestational diabetes mellitus. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:364-9.

90. Kovilam O, Khoury J, Miodovnik M, Chames M, Spinnoto J, Sibai B. Spontaneous preterm delivery in the type 1 diabetic pregnancy: the role of glycemic control. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 :245-8.

91. Mimouni F, Miodovnik M, Siddiqi TA, Berk MA, Wittekind C, Tsang RC. High spontaneous premature labor rate in insulin-dependent diabetic pregnant women: an association with poor glycemic control and urogenital infection. *Obstet Gynecol.* 1988;72:175-80.

92. Lowy C, Beard RW, Goldschmidt J. Congenital malformations in babies of diabetic mothers. *Diabet Med* 1986; 3:458-462.

93. Jervell J, Moe N, Skjaeraasen J, Blystad W, Egge K. Diabetes mellitus and pregnancy-management and results at Riks hospital, Oslo 1970-1977. *Diabetologia* 1979; 16:151-155.

94. Schneider JM, Curet LB, Olson RW, Stay G. Ambulatory care of the pregnant diabetic. *Obstetrics Gynecol* 1980; 56:144-149.

95. Barker DJP, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ* 301:259–262, 1990.

96. Hales CN, Barker DJ, Clark PM, Cox LJ, Fall C, Osmond C, Winter PD. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* 303:1019–1022, 1991.

97. Phillips DIW, Barker DJP, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* 1994; 37:150–154.

98. Clausen TD, Mathiesen ER, Hansen T, Pedersen O, Jensen DM, Lauenborg J, Damm P. High prevalence of type 2 diabetes and pre-diabetes in adult offspring of women with gestational diabetes mellitus or type 1 diabetes: the role of intrauterine hyperglycemia. *Diabetes Care*. 2008; 31:340-6.
99. Pettitt DJ, Aleck KA, Baird HR, Carraher MJ, Bennett PH, Knowler WC. Congenital susceptibility to NIDDM: role of intrauterine environment. *Diabetes* 1988; 37:622–628.
100. Silverman BL, Metzger BE, Cho NH, Loeb CA. Impaired glucose tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers: relationship to fetal hyperinsulinism. *Diabetes Care* 1995; 18:611–617.
101. Ogata ES, Sabbagha R, Metzger BE, Phelps RL, Depp R, Freinkel N. Serial ultrasonography to assess evolving fetal macrosomia. *JAMA* 1980; 243:2405.
102. Jazayeri A, Heffron JA, Phillips R, Spellaci WN. Macrosomia prediction using ultrasound fetal abdominal circumference of 35 centimeters or more. *Obstet Gynecol* 1999; 93:523-526.
103. Farrell T, Fraser R, Chan K. Ultrasonic fetal weight estimation in women with pregnancy complicated by diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83:1065-1066.
104. Berk MA, Mimouni F, Miodovnik M, Hertzberg V, Valuck J. Macrosomia in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *Pediatrics* 1989; 83:1029-1034.
105. Kehl RJ, Krew MA, Thomas A, Catalano PM. Fetal growth and body composition in infants of women with diabetes mellitus during pregnancy. *J Matern Fetal Med* 1996; 5:273-280.
106. Brans YW, Shannon DL, Hunter MA. Maternal diabetes and neonatal macrosomia. II. Neonatal anthropometric measurements. *Early Hum Dev* 1983; 8:297-305.

107. Uvena-Celebrezze J, Fung C, Thomas AJ, Hoty A, Huston Presley L, Amini SB, Catalano PM. Relationship of neonatal body composition to maternal glucose control in women with gestational diabetes mellitus. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2002;12:396-401.
108. Whitelaw A. Subcutaneous fat in newborn infants of diabetic mothers: An indication of quality of diabetic control. *Lancet*, 1977; 1:15-8.
109. Lampl M, Jeanty P. Exposure to maternal diabetes is associated with altered fetal growth patterns: A hypothesis regarding metabolic allocation to growth under hyperglycemic-hypoxemic conditions. *Am J Hum Biology*, 2004; 16:237-263.
110. Mulder EJ, Koopman CM, Vermunt JK, de Valk HW, Visser GH. Fetal growth trajectories in Type-1 diabetic pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010. [In press]
111. Jovanovic L. What is so bad about a big boy? *Diabetes Care* 2001; 24:1317-1318.
112. Carter TD, Anderson SM, Aldoretta PW, Hay WW. Effect of low-level basal plus marked “pulsatile” hyperglycaemia on insulin secretion in fetal sheep. *Am J Physiol* 1996; 271:E865-E871.
113. Kyne-Grzebalski D, Wood L, Marshall SM, Taylor R. Episodic hyperglycaemia in pregnant women with well-controlled Type 1 diabetes mellitus: a major potential factor underlying macrosomia. *Diabet Med* 1999; 16:702-706.
114. Keller JD, López-Zeno JA, Dooley SL, Socol ML. Shoulder dystocia and birth trauma in gestational diabetes: a five-year experience. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:928-30.
115. Combs AC, Navkaran BS, Khoury J. Elective induction versus spontaneous labour after sonographic diagnosis of fetal macrosomia. *Obstet Gynecol* 1993; 81:492-6.

116. William's Obstetrics, 19th edn.493-520; New York: Appleton & Lange; 1993.
117. Kaufmann RC, McBride P, Amankwah KS, Huffman DG. The effect of minor degrees of glucose intolerance on the incidence of neonatal macrosomia. *Obstet Gynecol* 1992; 80:97-101.
118. Langer O. Fetal macrosomia: etiologic factors. *Clin Obstet Gynecol* 2000; 43:283-97.
- 119 Kanaka-Gantenbein C. Fetal origins of adult diabetes. . *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1205:99-105.
120. Schwartz R. Hyperinsulinemia and macrosomia. *N Engl J Med* 1990; 323:340-2.
121. Mello G, Parretti E, Mecacci F, Pratesi M, Lucchetti R, Scarselli G. Anthropometric characteristics of full-term infants: effects of varying degrees of 'normal' glucose metabolism. *J Perinat Med* 1997; 25:197-204.
122. Van Assche FA, Horemans K, Aerts L. Fetal growth and consequences for later life. *J Perinat Med* 1998; 26:337-46.
123. Godfrey KM, Barker DJ. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1344S-52S.
124. Van Assche EA. Symmetric and asymmetric fetal macrosomia in relation to long-term consequences. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:563.
125. Lepercq J, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Mouzon SH.. Macrosomia revisited: ponderal index and leptin delineate subtypes of fetal overgrowth. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:621-5.

126. Landon MB, Sonek J, Foy P, Hamilton L, Gabbe GG. Sonographic measurement of fetal humeral soft tissue thickness in pregnancy complicated by GDM. *Diabetes* 1991; 40:66-70.
127. Bernstein IM, Catalano PM. Ultrasonographic estimation of fetal body composition for children of diabetic mothers. *Invest Radiol* 1991; 26:722-6.
128. Winn HN, Holcomb NL. Fetal nonmuscular soft tissue: a prenatal assessment. *J Ultrasound Med* 1993; 4:107-99.
129. Catalano PM, Tyazbir ED, Allen SR, McBean JH, McAuliffe TL. Evaluation of fetal growth by estimation of body composition. *Obstet Gynecol* 1992; 79:46-50.
130. Dudley NJ. Selection of appropriate ultrasound methods for the estimation of fetal weight. *Br J Radiol* 1995; 68:385-8.
131. Hirata GI, Medearis AL, Horenstein J. Ultrasonographic estimation of fetal weight in the clinically macrosomic fetus. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:238-42.
132. A Coomarasamy, M Connock, J Thornton, KS Khan. Accuracy of ultrasound biometry in the prediction of macrosomia: a systematic quantitative review. *British J Obstet Gynaecol* 2005;112:1461–1466
133. Miller JM, Korndorffer FA, Gabert HA. Fetal weight estimates in late pregnancy with emphasis on macrosomia. *J Clin Ultrasound* 1986; 14:437-42.
134. Shamley KT, Landon MB. Accuracy and modifying factors for ultrasonographic determination of fetal weight at term. *Obstet Gynecol* 1994; 84:926-30.
135. Favre R, Bader A-M, Nisand G. Prospective study on fetal weight estimation using limb circumferences obtained by three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 6:140-4.

136. Liang R-I, Chang F-M, Yao B-L. Predicting birth weight by fetal upper-arm volume with use of three-dimensional ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177:632-8.
137. Winn NH, Rauk PN, Patrie RH. Use of the fetal chest in estimating fetal weight. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167:448-50.
138. Petrikovsky BM, Oleschuk C, Lesser M. Prediction of fetal macrosomia using sonographically measured abdominal subcutaneous tissue thickness. *J Clin Ultrasound* 1997; 25:378-82.
139. Sood AK, Yancey M, Richards D. Prediction of fetal macrosomia using humeral soft tissue thickness. *Obstet Gynecol* 1995; 85:937-40.
140. Abramovicz JS, Sherer DM, Woods JR. Ultrasonographic measurements of cheek-to-cheek diameter in fetal growth disturbances. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:405-8.
141. Keller JD, Metzger BE, Doodly SL. Infants of diabetic mothers with accelerated fetal growth by ultrasonography: are they all alike? *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:893-7.
142. Crane SS, Avallone DA, Thomas AJ. Sonographic estimation of fetal body composition with gestational diabetes mellitus at term. *Obstet Gynecol* 1996; 88:849-54.
143. Wong SF, Chan FY, Oats JJN, McIntyre DH. Fetal growth spurt and pregestational diabetic pregnancy. *Diab Care* 2002; 25:1681-1684.
144. Pedersen JF, Molsted-Pedersen L. Early growth retardation in diabetic pregnancy. *Br Med J* 1979; 1:18-19.

145. Siddiqi TA, Miodovnik M, Mimouni F, Clark EA, Khoury JC, Tsang RC. Biphasic intrauterine growth in insulin-dependent diabetic pregnancies. *J Am College Nutr*, 1989; 3:225-234.
146. Nelson TR, Downey DB, Pretorius DH, Fenster A. Three-dimensional ultrasound. 1999, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia.
147. Baba K, Satoh K, Sakamoto S, Okai T, Ishii S. Development of an ultrasonic system for three-dimensional reconstruction of the fetus. *J Perinat Med* 1989; 17: 19-24.
148. Baba K, Jurkovic D. Three-dimensional ultrasound in obstetrics and gynecology. 1997, Parthenon Publishing Group, New York.
149. Landon MB, Mintz MC, Gabbe SG. Sonographic evaluation of fetal abdominal growth: predictor of large-for-gestational age infant in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160:115-121.
150. Mintz MC, Landon MB, Gabbe SG, Marinell DL, Ludmir J, Grumbach K, Arger PH, Coleman BG. Shoulder soft tissue width as a predictor of macrosomia in diabetic pregnancies. *Am J Perinatol* 1989; 6:240.
151. Holcomb WL, Mostello DJ, Gray D. Abdominal circumference vs. estimated weight to predict large for gestational age birth weight in diabetic pregnancy. *Clin Imaging* 2000; 24:1-7.
152. McClaren RA, Puckett JL, Chauhan SP. Estimators of birth weight in pregnant women requiring insulin: a comparison of seven sonographic models. *Obstet Gynecol* 1995; 85:565-569.
153. Benson CB, Doubilet PM, Saltzman DH. Sonographic determination of fetal weights in diabetic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1987, 156:441-444.

154. Combs CA, Rosenn B, Miodovnik M, Siddiqi TA. Sonographic EFW and macrosomia: is there an optimum formula to predict diabetic fetal macrosomia? *J Materna Fetal Med* 2000; 9:55-61.
155. Shepherd MJ. An evaluation of two equations for predicting fetal weight by ultrasound. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142:47-52.
156. Hadlock FP, Harrist RB, Carpenter RJ. Sonographic estimation of fetal weight. The value of femur length in addition to head and abdomen measurements. *Radiology* 1984; 150:535-540.
157. Bochner CJ, Medearis AL, Williams J, Castro L, Hobel CJ, Wade ME. Early third-trimester ultrasound screening in gestational diabetes to determine the risk of macrosomia and labor dystocia at term. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157:703–708.
158. Gilby JR, Williams MC, Spellacy WN. Fetal abdominal circumference measurements of 35 and 38 cm as predictors of macrosomia. A risk factor for shoulder dystocia. *J Reprod Med* 2000;45:936–938.
159. Klaij FA, Geirsson RT, Nielsen H, Hreinsdottir M and Haraldsdottir KR. Humerospinous distance measurements: accuracy and usefulness for predicting shoulder dystocia in delivery at term. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 115–119.
160. Gonen R, Spiegel D and Abend M. Is macrosomia predictable, and are shoulder dystocia and birth trauma preventable? *Obstet Gynecol* 1996; 88: 526–529.

161. Cohen B, Penning S, Major C, Ansley D, Porto M, Garite T. Sonographic prediction of shoulder dystocia in infants of diabetic mothers. *Obstet Gynecol* 1996;88: 10–13.
162. Galan HL, Rigano S, Radaelli T, Cetin I, Bozzo M, Hobbins JC, Ferrazzi E. Reduction of subcutaneous mass, but not lean mass, in normal fetuses in Denver, Colorado. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 839–844.
163. Bonomo M, Cetin I, Pisoni MP, Faden D, Mion E, Taricco E, Nobile de Santis M, Radaelli T, Motta G, Costa M, Solerte L, Morabito A. A flexible approach to the treatment of gestational diabetes modulated on ultrasound evaluation of intrauterine growth: a controlled randomized clinical trial. *Diabetes Metab* 2004; 30: 237–243.
164. Schaefer-Graf UM, Kjos SL, Fauzan OH, Buhiling KJ, Siebert G, Buhner C, Ladendorf B, Dudenhausen JW, Vette K. A randomized trial evaluating a predominately fetal growth-based strategy to guide management of gestational diabetes in caucasian women. *Diabetes Care* 2004; 27: 297–302.
165. de Santis MS, Taricco E, Radaelli T, Spada E, Rigano S, Ferrazzi E, Milani S, Cetin I. Growth of fetal lean mass and fetal fat mass in gestational diabetes. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010; 36:328-37.
166. Dückelmann AM, Kalache KD. Three-dimensional ultrasound in evaluating the fetus. *Prenat Diagn*. 2010; 30:631-8.
167. Kurjak A, Miskovic B, Andonotopo W, Stanojevic M, Azumendi G, Vrcic H. How useful is 3D and 4D ultrasound in perinatal medicine? *J Perinat Med*. 2007;351:10-27.
168. Ben-Haroush A, Yogev Y, Hod M. Fetal weight estimation in diabetic pregnancies and suspected fetal macrosomia. *J Perinat Med* 2004;32:113-21.

169. Chang FM, Liang RI, Ko HC, Yao BL, Chang CH, Yu CH. Three-dimensional ultrasound-assessed fetal thigh volumetry in predicting birth weight. *Obstet Gynecol* 1997;90:331–339.
170. Liang RI, Chang FM, Yao BL, Chang CH, Yu CH, Ko HC. Predicting birth weight by fetal upper-arm volume with use of three-dimensional ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 632–638.
171. Lee W, Deter RL, Ebersole JD, Huang R, Blanckaert K, Romero R. Birth weight prediction by three-dimensional ultrasonography: fractional limb volume. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 1283–1292.
172. Song TB, Moore TR, Lee JI, Kim YH, Kim EK. Fetal weight prediction by thigh volume measurement with three-dimensional ultrasonography. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 157–161.
173. Shild RL, Fimmers R, Hansmann M. Fetal weight estimation by three-dimensional ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 445–452.
174. Lee W, Balasubramaniam M, Deter RL, Hassan SS, Gotsch F, Kusanovic JP, Goncalves LF, Romero R. Fetal growth parameters and birth weight: their relationship to neonatal body composition. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009; 33: 441–446.
175. Jaeggi ET, Fouron JC and Proulx F. Fetal cardiac performance in uncomplicated and well-controlled maternal type I diabetes, *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:311–315.
176. Landon MB, Gabbe SG, Bruner JP and Ludmir J. Doppler umbilical artery velocimetry in pregnancy complicated by insulin-dependent diabetes mellitus, *Obstet Gynecol* 1989; 73: 961–965.

177. Salvesen DR, Higuera MT, Mansur CA, Freeman J, Brudenell JM, Nicolaides KH. Placental and fetal Doppler velocimetry in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus, *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:645–652.
178. Dicker D, Goldman JA, Yeshaya A and Peleg D. Umbilical artery velocimetry in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) pregnancies, *J Perinat Med* 1990; 18: 391–395.
179. Johnstone FD, Steel JM, Haddad NG, Hoskins PR, Greer IA and Chambers S. Doppler umbilical artery flow velocity waveforms in diabetic pregnancy, *Br J Obstet Gynaecol* 1992; 99: 135–140.
180. Tan AE, Norizah WM and Rahman HA, Aziz BA, Cheah FC. Umbilical artery resistance index in diabetic pregnancies: the associations with fetal outcome and neonatal septal hypertrophic cardiomyopathy, *J Obstet Gynaecol Res* 2005; 31: 296–301
181. Kofinas AD, Penry M, Swain M Uteroplacental Doppler flow velocity waveform analysis correlates poorly with glycemic control in diabetic pregnant women. *Am J Perinatol* 1991;8:273-7.
182. Zimmermann P, Kujansuu E, Tuimala R. Doppler flow velocimetry of the uterine and uteroplacental circulation in pregnancies complicated by insulin-dependent diabetes mellitus. *J Perinat Med* 1994; 22: 137-47.
183. Ishimatsu J, Yoshimura O, Manabe A, Hotta M, Matsunaga T, Matsuzaki T, Tetsuo M, Hamada T. Umbilical artery blood flow velocity waveforms in pregnancy complicated by diabetes mellitus. *Arch Gynecol Obstet* 1991;248:123-7.

184. Haddad B, Uzan M, Tchobroutsky C, Uzan S, Papiernik-Berkhauer E. Predictive value of uterine Doppler waveform during pregnancies complicated by diabetes. *Fetal Diagn Ther* 1993; 8: 119-25.
185. Macklon NS, Hop WC, Wladimiroff JW. Fetal cardiac function and septal thickness in diabetic pregnancy: a controlled observational and reproducibility study. *Br J Obstet Gynecol* 1998; 105: 661-6
186. Van Mieghem T, DeKoninck P, Steenhaut P, Deprest J. Methods for prenatal assessment of fetal cardiac function. *Prenat Diagn* 2009;29:1193-203.
187. Rizzo G, Arduini D, Romanini C. Accelerated cardiac growth and abnormal cardiac flow in fetuses of type I diabetic mothers. *Obstet Gynecol* 1992;80:369-76.
- 188 Jaeggi ET, Fouron JC, Proulx F. Fetal cardiac performance in uncomplicated and well-controlled maternal type I diabetes. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2001;17:311-5.
- 189 Rizzo G, Arduini D, Romanini C. Cardiac function in fetuses of type I diabetic mothers. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:837-43.
190. Macklon NS, Hop WC, Wladimiroff JW. Fetal cardiac function and septal thickness in diabetic pregnancy: a controlled observational and reproducibility study. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:661-6.
191. Russell NE, McAuliffe FM. First-trimester fetal cardiac function. *J Ultrasound Med* 2008;27:379-83
192. Rizzo G, Arduini D, Capponi A, Romanini C. Cardiac and venous blood flow in fetuses of insulin dependent diabetic mothers: evidence of abnormal hemodynamics in early gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173; 1775-81.

193. Russel NE, Foley M, Kinsley BT, Firth RG, Coffey M, McAuliffe FM. Effect of pregestational diabetes mellitus on fetal cardiac function and structure. *Am J Obstet Gynecol* 2008 ;199:312.e1-7.
194. Wong SF, Petersen SG, Idris N, Thomae M, McIntyre HD. Ductus venosus velocimetry in monitoring pregnancy in women with pregestational diabetes mellitus. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;36:350-4.
195. Stuart A, Amer-Wählin I, Gudmundsson S, Marsál K, Thuring A, Källen K. Ductus venosus blood flow velocity waveform in diabetic pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;36:344-9.
196. Bradley RJ, Nicolaides KH, Brudenell JM. Are all infants of diabetic mothers 'macrosomic'? *British Med J* 1988;297:1583-4.
197. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal medicine foundation first trimester screening group. *Lancet* 1998;352:343-6.
198. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free β -human chorionic gonadotropin, and pregnancy associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31:618-24.
199. Wright D, Kagan KO, Molina FS, Gazzoni A, Nicolaides KH. A mixture model of nuchal translucency thickness in screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 ;31:376-83.
200. Ong CYT, Liao A, Spencer K, Munim S, Nicolaides KH. First trimester maternal serum free β human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated

plasma protein A as predictors of pregnancy complications. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107: 1265–1270.

201. Pellitero S, Reverter JL, Pizarro E, et al. Pregnancy associated plasma protein-A levels are related to glycemic control but not lipid profile or hemostatic parameters in Type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 3083–3085.

202. Bartha JL, Wood J, Kyle PM, Soothill PW. The effect of metabolic control on fetal nuchal translucency in women with insulin-dependent diabetes: a preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2003;21:451-4.

203. Fink M, Sheiner E, Sheizaf B, Hershkovitz R, Bashiri A, Mazor M, Wiznitzer A. Nuchal translucency thickness in euploid fetuses: is two millimeters too risky? *Am J Perinatol.* 2009;26:303-7.

204. Leipold H, Worda C, Ozbal A, Husslein P, Krampfl E. First-trimester nuchal translucency screening in pregnant women who subsequently developed gestational diabetes. *J Soc Gynecol Investig.* 2005 ;12:529-32.

205. Spencer K, Cicero S, Atzei A, Otigbah C, Nicolaides KH. The influence of maternal insulin-dependent diabetes on fetal nuchal translucency thickness and first-trimester maternal serum biochemical markers of aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2005;25:927-9.

206. Spencer K, Cowans NJ, Spencer CE, Achillea N. A re-evaluation of the influence of maternal insulin-dependent diabetes on fetal nuchal translucency thickness and first-trimester maternal serum biochemical markers of aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2010;30:937-40.

207. Kelekci S, Yilmaz B, Savan K, Sonmez S. Can increased nuchal translucency in the first trimester of pregnancy predict gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol.* 2005;25:579-82.

208. Poon LC, Karagiannis G, Stratieva V, Syngelaki A, Nicolaides KH. First-Trimester Prediction of Macrosomia. *Fetal Diagn Ther*. 2010. [In press]
209. Hackmon R, Le Scale KB, Horani J, Ferber A, Divon MY. Is severe macrosomia manifested at 11-14 weeks of gestation? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008;32:740-3.
210. Tei C, Ling LH, Hodge DO et al. New index of combined systolic and diastolic myocardial performance: a simple and reproducible measure of cardiac function. A study in normals and in dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 1995; 26: 357-66.
211. Eidem BW, Edwards JM, Cetta F. Quantitative assessment of fetal ventricular function: establishing normal values of the myocardial performance index in the fetus. *Echocardiography*. 2001;18:9-13.
212. Friedman D, Buyon J, Kim M, Glickstein JS. Fetal cardiac function assessed by Doppler myocardial performance index (Tei Index). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2003;21:33-6.
213. Hernandez-Andrade E, Figueroa-Diesel H, Kottman C, Illanes S, Arraztoa J, Acosta-Rojas R, Gratacós E. Gestational-age-adjusted reference values for the modified myocardial performance index for evaluation of fetal left cardiac function. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29:321-5.
214. Hernandez-Andrade E, López-Tenorio J, Figueroa-Diesel H, Sanin-Blair J, Carreras E, Cabero L, Gratacos E. A modified myocardial performance (Tei) index based on the use of valve clicks improves reproducibility of fetal left cardiac function assessment. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2005;26:227-32.

215. Van Mieghem T, Gucciardo L, Lewi P, Lewi L, Van Schoubroeck D, Devlieger R, De Catte L, Verhaeghe J, Deprest J. Validation of the fetal myocardial performance index in the second and third trimesters of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33:58-63.
216. Huggon IC, Turan O, Allan LD Doppler assessment of cardiac function at 11-14 weeks' gestation in fetuses with normal and increased nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 ;24:390-8.
217. Raboisson MJ, Bourdages M, Fouron JC. Measuring left ventricular myocardial performance index in fetuses. *Am J Cardiol* 2003; 91: 919–921
218. Wong ML, Wong WH, Cheung YF. Fetal myocardial performance in pregnancies complicated by gestational impaired glucose tolerance. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:395-400.
219. Tsutsumi T, Ishii M, Eto G, Hota M, Kato H. Serial evaluation for myocardial performance in fetuses and neonates using a new Doppler index. *Pediatr Int.* 1999;41:722-7.
220. Pedersen JF, Molsted-Pedersen L. Early fetal growth delay detected by ultrasound marks increased risk of congenital malformation in diabetic pregnancy. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1981 25;283:269-71.
221. Pedersen JF, Molsted-Pedersen L, Lebech PE. Is the early growth delay in the diabetic pregnancy accompanied by a delay in placental development? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1986;65:675-7.
222. Steel JM, Johnstone SD, Corrie JET. Early assessment of gestation in diabetics. *Lancet* 1984;2;975-6.

223. Tchobroutsky C, Breart GL, Rambaud DC, Henrion R. Correlation between fetal defects and early growth delay observed by ultrasound. *Lancet* 1985;1:706-7.
224. Mulder EJH, Visser GHA. Growth and motor development in fetuses of women with type 1 diabetes. I. Early growth patterns. *Early Hum Dev* 1991;25:91-106.
225. Hieta-Heikurainen H, Teramo K. Comparison of menstrual history and basal body temperature with early fetal growth by ultrasound in diabetic pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1989;68:457-9.
226. Falcon O, Peralta CFA, Cavoretto P, Faiola S, Nicolaides KH. Fetal trunk and head volume measured by 3D ultrasound at 11⁺⁰ -13⁺⁶ weeks of gestation in chromosomally normal pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:263-6.
227. Falcon O, Peralta CFA, Cavoretto P, Auer A, Nicolaides KH. Fetal trunk and head volume in chromosomally abnormal fetuses at 11⁺⁰ -13⁺⁶ weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26:517-20.
228. Falcon O, Cavoretto P, CFA Peralta, B Csapo, KH Nicolaides. Fetal head to trunk volume ratio in chromosomally abnormal fetuses at 11⁺⁰ -13⁺⁶ weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;26:755-60.
229. Wegrzyn P, Faro C, Falcon O, Peralta CF, Nicolaides KH. Placental volume measured by three-dimensional ultrasound at 11⁺⁰ -13⁺⁶ weeks of gestation: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26:28-32.
230. Robinson HP, Fleming JE. A critical evaluation of sonar "crown-rump length" measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1975;82:702-10.
231. Sonek J, Nicolaides K. Additional first-trimester ultrasound markers. *Clin Lab Med.* 2010;30:573-92

232. Maiz N, Kagan KO, Milovanovic Z, Celik E, Nicolaides KH. Learning curve for Doppler assessment of ductus venosus flow at 11⁺⁰ to 13⁺⁶ weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:503-6.
233. Maiz N, Valencia C, Emmanuel EE, Staboulidou I, Nicolaides KH. Screening for adverse pregnancy outcome by ductus venosus Doppler at 11⁺⁰ to 13⁺⁶ weeks of gestation. *Obstet Gynecol.* 2008;112:598-605.
234. Maiz N, Staboulidou I, Leal AM, Minekawa R, Nicolaides KH. Ductus venosus Doppler at 11 to 13 weeks of gestation in the prediction of outcome in twin pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2009;113:860-5.
235. Maiz N, Valencia C, Kagan KO, Wright D, Nicolaides KH. Ductus venosus Doppler in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11-13 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33:512-7.
236. Maiz N, Plasencia W, Dagklis T, Faros E, Nicolaides K. Ductus venosus Doppler in fetuses with cardiac defects and increased nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31:256-60.
237. Kagan KO, Valencia C, Livanos P, Wright D, Nicolaides KH. Tricuspid regurgitation in screening for trisomies 21, 18 and 13 and Turner syndrome at 11⁺⁰ to 13⁺⁶ weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009 ;33:18-22.
238. Falcon O, Faiola S, Huggon I, Allan L, Nicolaides KH. Fetal tricuspid regurgitation at the 11⁺⁰ to 13⁺⁶ -week scan: association with chromosomal defects and reproducibility of the method. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006 ;27:609-12.
239. Falcon O, Auer M, Gerovassili A, Spencer K, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by fetal tricuspid regurgitation, nuchal translucency and maternal

serum free beta-hCG and PAPP-A at 11⁺⁰ to 13⁺⁶ weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27:151-5.

240. Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaides KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with tricuspid regurgitation at the 11⁺⁰ to 13⁺⁶ -week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26:22-7.

241. Parazzini F, Cortinovis I, Bortolus R, Fedele L, Decarli A. Weight at birth by gestational age in Italy. *Hum Reprod.* 1995;10:1862-3.

242. Poon LC, Karagiannis G, Staboulidou I, Shafiei A, Nicolaides KH. Reference range of birth weight with gestation and first-trimester prediction of small-for-gestation neonates. *Prenat Diagn.* 2010[In press]

243. Bollinger A, Frey J, Jäger K, Furrer J, Seglias J, Siegenthaler W. Patterns of diffusion through skin capillaries in patients with long-term diabetes. *N Engl J Med.* 1982;307:1305-10.

244. Rechthand E, Smith QR, Latker CH, Rapoport SI. Altered blood-nerve barrier permeability to small molecules in experimental diabetes mellitus. *J Neuropathol Exp Neurol* 1987; 46: 302–314

245. Tooke JE. Microvascular function in human diabetes. A physiological perspective. *Diabetes* 1995; 44: 721–726.

246. Antonetti DA, Barber AJ, Khin S, Lieth E, Tarbell JM, Gardner TW. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occluding content: vascular endothelial growth factor decreased occluding in retinal endothelial cells. Penn State Retina Research Group. *Diabetes* 1998; 47: 1953–1959.

247. Brausewetter F, Jehle PM, Jung MF, Boehm BO, Brueckel J, Hombach V, Osterhues HH. Microvascular permeability is increased in both types of diabetes and correlates differentially with serum levels of insulin-like growth factor I (IGF-I) and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Horm Metab Res* 2001; 33: 713–720.
248. Bleicher SJ, Lee TY, Bernstein R, Schachter L, Temes R, Krupin T, Santiago J, Becker B, Waltman SR. Effect of blood glucose control on retinal vascular permeability in insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1980; 3: 184–186.
249. Michal M, Fetsch J, Hes O, et al. Nuchal-type fibroma; a clinicopathologic study of 52 cases. *Cancer* January 1 1999;85: 156e63.
250. Karonidis A, Rigby HS, Orlando A. Collagenosis Nuchae: a case report of a rare and often misdiagnosed condition. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2007;60:320-3.
251. Liu Z, Aronson J, Wahl EC, Liu L, Perrien DS, Kern PA, Fowlkes JL, Thrailkill KM, Bunn RC, Cockrell GE, Skinner RA, Lumpkin CK Jr. A novel rat model for the study of deficits in bone formation in type-2 diabetes. *Acta Orthop*. 2007 ;78:46-55.
252. Chau D L, Edelman S V, Chandran M. Osteoporosis and diabetes. *Curr Diabetes Reports* 2003; 3: 37-42.
253. Lu H, Kraut D, Gerstenfeld L C, Graves D T. Diabetes interferes with the bone formation by affecting the expression of transcription factors that regulate osteoblast differentiation. *Endocrinology* 2003; 144: 346-52.

254. Tyndall W A, Beam H A, Zarro C, O'Connor J P, Lin S S. Decreased platelet derived growth factor expression during fracture healing in diabetic animals. *Clin Orthop* 2003; (408): 319-30.
255. Rizzo G, Pietropolli A, Capponi A, Cacciatore C, Arduini D, Romanini C. Analysis of factors influencing ventricular filling patterns in fetuses of type I diabetic mothers. *J Perinat Med*. 1994;22:149-57.
256. Harada K, Tamura M, Toyono M, Yasuoka K. Comparison of the right ventricular Tei index by tissue doppler imaging to that obtained by pulsed Doppler in children without heart disease. *Am J Cardiol* 2002; 90: 566–569.
257. Doblado M and Moley KH. Glucose metabolism in pregnancy and embryogenesis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2007; 14: 488-493.
258. Eriksson UJ. Congenital malformations in diabetic animal models – a review. *Diabetes Res* 1984;1:57-66.
259. Mulder EJH, Bradler LJ, Verhoef A, Piersma AH, Visser GHA, Peters PWJ. Whole rat embryo culture in serum of insulin-dependent (type-1) diabetic women. *Toxicol In Vitro* 1989;3:221-6.
260. Cucke HS, Wald NJ, Hughes DR. Cord serum alpha-fetoprotein and maternal insulin-dependent diabetes mellitus. *Br J Obstet Gynecol* 1989;96:1450-2.
261. Salvesen DR, Brudenell JM, Proudler AJ, Crook D, Nicolaidis KH. Fetal pancreatic β -cell function in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus: relationship to fetal acidemia and macrosomia. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1363-9.

262. Picon L. Effect of insulin on growth and biochemical composition of the rat fetus. *Endocrinology* 1967;81:1419-21.
263. Susa JB, Naeve C, Sehgal P, Singer DB, Zeller WP, Schwartz R. Chronic hyperinsulinemia in the fetal rhesus monkey: effects of physiologic hyperinsulinemia on fetal growth and composition. *Diabetes* 1984;33:656-60.
264. Naeye RL. Infants of diabetic mothers: a quantitative morphological study. *Paediatrics* 1965;35:980-8.
265. Nualart F, Godoy A, Reinicke K. Expression of the hexose transporters GLUT1 and GLUT2 during the early development of the human brain. *Brain Res.* 1999;824:97-104.
266. Nasrat H, Abalkhail B, Fageeh W, Shabat A, el Zahranly F. 1997. Anthropometric measurement of newborns of gestational diabetic mothers: does it indicate disproportionate growth? *J Matern Fetal Med* 6:291–295.

Ringraziamenti

Ringrazio il Professor Enrico Ferrazzi per avermi permesso di frequentare la Sua prestigiosa Scuola di Dottorato e per avermi arricchito culturalmente con i Suoi preziosi consigli.

Ringrazio la Professoressa Irene Cetin per aver guidato la mia crescita culturale e scientifica ed per aver supervisionato il mio lavoro. Il Suo metodo è stato un esempio che ha rafforzato in me la passione la medicina fetale, come pure per lo studio, la ricerca e l'insegnamento.

Ringrazio il Professor Kypros Nicolaides per avermi formato come ricercatore e per avermi reso competente in medicina fetale. La Sua guida in questi anni e le Sue rigorose e costruttive critiche, mi hanno permesso di crescere migliorando la mia metodologia.

Ringrazio il Professor Augusto Ferrari ed il Professor Massimo Candiani per aver favorito il mio progetto concedendomi la possibilità di effettuare il reclutamento dei pazienti presso il San Raffaele, come pure la libertà, gli spazi e le risorse tecnologiche per gestirlo al meglio.

Ringrazio tutti i colleghi dell'ostetricia San Raffaele, in particolare la Dott.ssa Mariateresa Castiglioni, il Dr Daniele Spagnolo ed il Dr Luca Valsecchi per l'amicizia che mi hanno dimostrato, per aver creduto nel mio progetto e per avermi facilitato ed aiutato in modo sostanziale nel quotidiano lavoro di reclutamento dei casi riferiti al centro di gravidanza e diabete.

Ringrazio mio padre e mia madre per avermi supportato amorevolmente concedendomi la possibilità di arrivare fino a qui con il loro aiuto.

Ringrazio la mia compagna Serena per avermi amato e sostenuto in questi anni, e per avermi dato un figlio meraviglioso: Federico, senza il quale forse oggi tutto questo lavoro avrebbe un significato meno importante.