



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Corso di Dottorato di Ricerca in SCIENZE FISIOPATOLOGICHE,
NEUROPSICOBIOLOGICHE, E ASSISTENZIALI DEL CICLO DELLA VITA
(Ciclo XXVI)

CARATTERIZZAZIONE DI PARAMETRI BIOMETRICI PLACENTARI E FETALI IN GRAVIDANZE DI DONNE OBESE SSMED/40

Relatore:

Prof.ssa Cetin

Direttore della Scuola:

Prof. Roberto L. Weistein

Tesi di Dottorato di
Stefania CALABRESE

Matr. nr. R09101

Anno Accademico 2012-2013

INDICE

INTRODUZIONE	pg 3-21
<ul style="list-style-type: none">• obesità materna: rischi materno-fetali• obesità materna come fenotipo pro-infiammatorio• placenta come organo di scambio metabolico• la crescita fetale• obesità e biometria placentare• sesso fetale e biometria placentare	
SCOPO DELLA TESI	pg 22
MATERIALI E METODI	pg 23-28
ANALISI STATISTICA	pg 29
RISULTATI	pg 30-37
DISCUSSIONE	pg 38-46
CONCLUSIONI	pg 47
BIBLIOGRAFIA	pg 48-58

INTRODUZIONE

obesità materna: rischi materno-fetali

L'obesità materna, intesa come Body Mass Index (BMI) pregravidico $\geq 30 \text{ kg/m}^2$, rappresenta un fattore di rischio indipendente per complicanze materno-fetali. È stato stimato che 1 donna su 5 (1, 2) arriva al concepimento in condizioni di obesità. Le proiezioni dell'Oms mostrano che, per il 2015, gli adulti in sovrappeso saranno circa 2,3 miliardi e gli obesi più di 700 milioni con una prevalenza attuale tra le donne europee del 6-37 % (3).

L'obesità materna pre-gravidica rappresenta un importante fattore di rischio di outcomes sfavorevoli della gravidanza, tra cui ipertensione, diabete, preeclampsia e complicanze al parto. In particolare, si associa più frequentemente a travaglio prolungato, distocie dinamiche che richiedono maggiore utilizzo di ossitocina, distocie meccaniche e maggior rischio di taglio cesareo (4,5); è stato stimato (6) che il rischio di preeclampsia aumenta di 2-3 volte con effetto dose dipendente in relazione al BMI, e soprattutto delle forme precoci e severe.

Tra le complicanze neonatali, essa si associa ad un maggior rischio di parto pretermine e sindrome metabolica dell'adulto ed il rischio di morti fetali tardive è stato stimato di 2-3 volte maggiore rispetto alla popolazione generale (7).

L'ambiente endocrino e metabolico delle donne obese, caratterizzato da riduzione dell'insulino-sensibilità a livello dei tessuti periferici, determina maggior disponibilità di nutrienti a livello dell'unità feto-placentare con alterazioni a livello dell'ambiente intrauterino, overnutrizione fetale e modificazioni metaboliche che di associano a ripercussioni nella vita adulta con maggior predisposizione alla sindrome metabolica (8). (Fig.1) Maggior prevalenza di Large for Gestational Age (LGA) e alti livelli di leptina ed insulina sono stati dimostrati a livello ematico di neonati di madri obese (9).

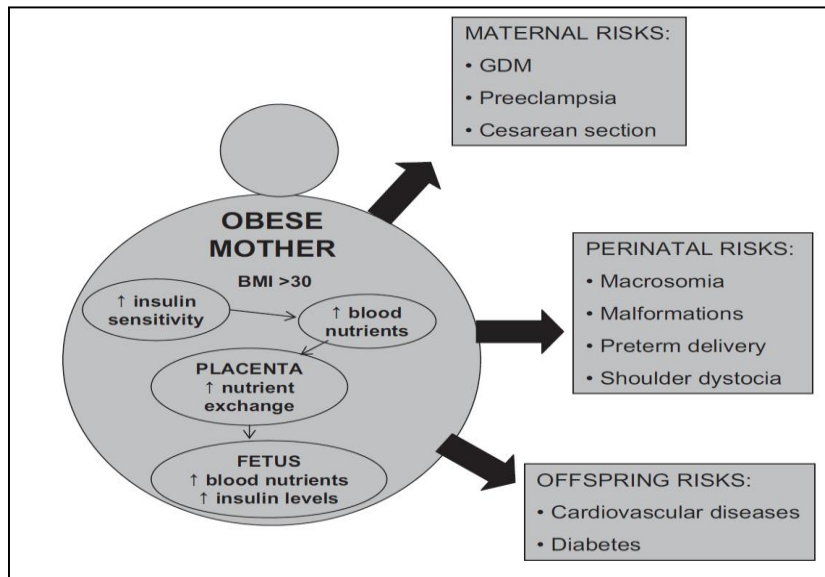


Fig1. Effetti dell'obesità materna sulla gravidanza, feto ed a lungo termine

obesità materna come fenotipo pro-infiammatorio

L'obesità induce uno stato infiammatorio cronico di basso grado in cui aumentano i livelli circolanti di mediatori dell'infiammazione tra cui PCR, IL-6, TNF- α .

L'obesità e la gravidanza contribuiscono entrambe singolarmente ad uno stato infiammatorio sistemico intravascolare; pertanto è stato suggerito che la risposta infiammatoria combinata possa essere particolarmente pericolosa sia per la madre che per il feto (Fig. 2).

Alla base della risposta infiammatoria tipica della preeclampsia vi è un danno endoteliale legato ad inadeguato apporto di ossigeno alla placenta determinante uno stato ipossico tissutale; nell'obesità, alti livelli circolanti di glucosio determinano alti livelli di emoglobina glicosilata con riduzione dell'affinità e rilascio dell'ossigeno ai tessuti periferici (10). Lo stress ossidativo ha pertanto un ruolo chiave nel reclutamento neutrofilo a livello vascolare sia nella preeclampsia che nell'obesità (11,12); le concentrazioni di PCR, leptina e macrofagi sono elevate in donne obese in gravidanza ed in donne che svilupperanno preeclampsia (13, 14).

Inoltre, nei soggetti obesi, l'iperlipidemia riduce la secrezione di prostaciline ed aumenta quella di trombossani *via* perossidazione lipidica aumentando pertanto la vasocostrizione ed aggregazione piastrinica (15).

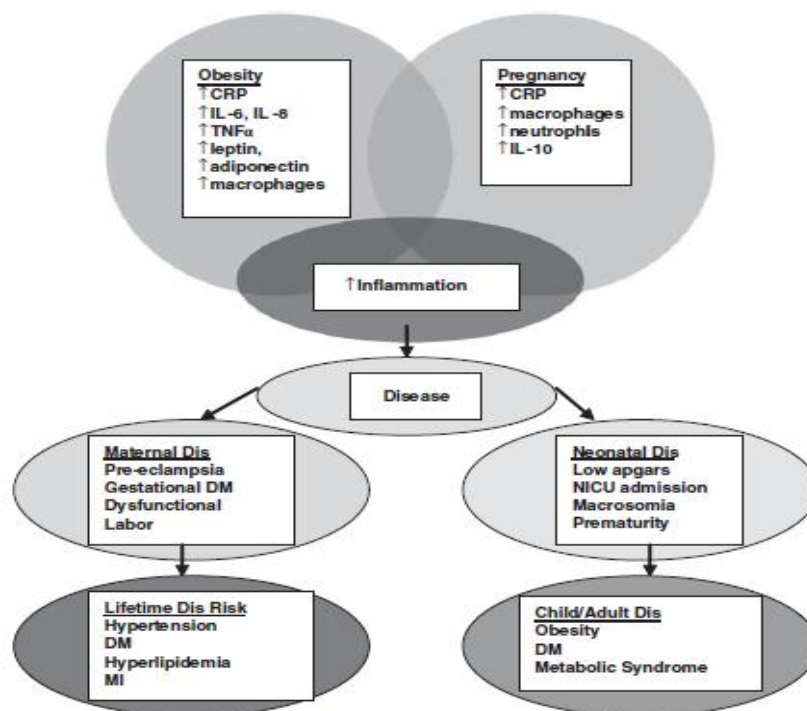


Figure 1 The interplay between obesity, pregnancy, inflammation and disease.

Fig2. Gravidanza, obesità, infiammazione ed outcomes materno-fetali

Pentraxin-3 (PTX3) è una molecola infiammatoria appartenente alla stessa famiglia di PCR che viene espressa da diversi tipi di cellule (endoteliali, macrofagi, monociti e fibroblasti) in risposta a stimoli infiammatori (16); è stato dimostrato che la sua produzione è disregolata in soggetti obesi mostrando una relazione inversa con i livelli di trigliceridi a digiuno ed in presenza di sindrome metabolica. Tuttavia, alti livelli di PTX3 mRNA sono presenti nel tessuto adiposo di soggetti con BMI > 25 kg/m² (17) suggerendo una diversa regolazione nei tessuti. Dati contraddittori emergono tuttavia da altri studi in cui PTX3 risulta aumentata in presenza di obesità ed alcuni fattori di rischio cardiovascolari come l'aterosclerosi (18); A tutt'oggi, nessuna chiara spiegazione è stata proposta per giustificare queste discrepanze. Il nostro gruppo e altri hanno dimostrato che i livelli materni di PTX3 sono significativamente alti in presenza di preeclampsia (19, 20).

Questi dati dimostrano che l'obesità come stato infiammatorio cronico di basso grado possa rappresentare un substrato particolarmente pericoloso per lo sviluppo di patologie ostetriche e soprattutto delle loro forme più gravi amplificando l'infiammazione di base presente ad esempio nella preeclampsia.

Obesità: alterazioni nel trasporto placentare

L'obesità materna rappresenta un fenotipo pro-infiammatorio, endocrino e metabolico che determina

- 1) un incremento di apporto di nutrienti all'unità feto-placentare
- 2) alterazione nella funzione e trasporto placentare
- 3) stato infiammatorio fetale che attraverso il fetal programming predispone alla sindrome metabolica dell'adulto

In condizioni fisiologiche, la gravidanza si associa ad uno stato anabolico nel corso del I trimestre, caratterizzato da deposito di massa grassa a livello periferico necessaria per la crescita fetale esponenziale tipica del II-III trimestre. In tale periodo si assiste infatti ad un incremento del gradiente di concentrazione materno-fetale di trigliceridi, colesterolo ed acidi grassi liberi con un aumento relativo degli acidi grassi saturi (21) per effetto di un aumento dell'attività lipolitica del tessuto adiposo e dei tessuti extra epatici, di un aumento dell'assorbimento intestinale di grassi e di una diminuita insulino-sensibilità a livello dei tessuti periferici.

Allo stato attuale esistono pochi studi sul trasporto placentare in gravidanze di donne obese; provengono per lo più da modelli animali, colture di trofoblasto e da studi di espressione su placentate umane.

Un recente studio condotto da Zhu (22) su modello animale di pecora gravida ha dimostrato che l'obesità materna determina un incremento significativo dei livelli di colesterolo e trigliceridi sia a livello ematico materno che fetale. Inoltre sia l'espressione placentare di mRNA che il contenuto proteico di trasportatori di acidi grassi tra cui FATP1 e FATP4 erano significativamente aumentati a metà gravidanza nelle pecore gravide obese rispetto ai controlli; anche l'espressione di mRNA ed il contenuto proteico di PPAR γ , che regola l'espressione dei trasportatori FATPs, erano aumentati.

Nelle gravidanze complicate da diabete ed obesità è stata dimostrata una significativa up-regolazione dell'espressione della lipasi endoteliale (EL), una delle predominanti lipasi dei trigliceridi presente a livello placentare, rispetto alle gravidanze di donne normopeso mentre la stessa associazione non è stata confermata nelle gravidanze di donne solo obese o solo diabetiche (23). Ciò suggerisce che un certo grado di infiammazione nella madre, nella placenta o nel feto sono necessari per indurre cambiamenti molecolari ed accumulo di acidi grassi a livello del

trofoblasto (24) ma che probabilmente il metabolismo lipidico prevede anche meccanismi di regolazione diversi dall'infiammazione.

Tessuto adiposo: organo endocrino ed infiammatorio

Il tessuto adiposo non è unicamente un organo di deposito ma rappresenta uno dei tessuti più attivi del nostro organismo sia dal punto di vista metabolico che endocrino.

Nell'obesità, l'aumento della massa grassa si associa ad un incremento dell'infiammazione a livello del tessuto adiposo e sempre maggiori evidenze sottolineano un rapporto di causalità tra infiammazione-insulino-resistenza e altre condizioni patologiche correlate all'obesità come le malattie cardiovascolari. Tuttavia, questi dati emergono da studi condotti su soggetti non in gravidanza e a tutt'oggi mancano studi relativi all'impatto della gravidanza sulla biologia del tessuto adiposo e sul ruolo del tessuto adiposo e dell'infiammazione nel determinare gli outcomes ostetrici (25).

E' noto che gli adipociti secernono elevati livelli di adipokine, tra cui TNF- α e leptina, e che queste molecole determinano effetti sia a livello locale che sistemico. In condizioni di obesità aumentano inoltre i livelli materni di IL-6 e si riducono i livelli di adiponectina con conseguente accumulo di grasso viscerale.

Le citokine prodotte a livello del tessuto adiposo determinano effetti sistemici, modulano il segnale insulinico a livello del tessuto epatico, muscolare e scheletrico ed esercitano potenziali effetti anche a livello placentare (Fig 3).

A livello locale, in risposta alle adipokine, aumenta nel tessuto adiposo l'infiltrato di macrofagi con necrosi degli adipociti e conseguente ulteriore aumento della risposta infiammatoria attraverso la produzione di specie reattive dell'ossigeno come ossido nitrico (NO) *via* attivazione di NOS2 (26).

I macrofagi vengono identificati in strutture "crown-like" che circondano gli adipociti in necrosi, come risposta ad una disregolazione del tessuto adiposo (Fig 4).

Come precedentemente riportato, alti livelli di PTX3 mRNA sono presenti nel tessuto adiposo di soggetti obesi (17) ad ulteriore conferma del correlato infiammatorio che caratterizza questa popolazione.

Studi recenti hanno dimostrato il ruolo di IL-6 e TNF nella regolazione della crescita fetale attraverso la modulazione dell'attività del sistema A di trasporto degli aminoacidi, ma non del trasporto degli L- aminoacidi (27).

E' plausibile pertanto che le funzioni e la struttura placentare siano alterate come conseguenza della produzione di molecole infiammatorie a partire dal tessuto adiposo.

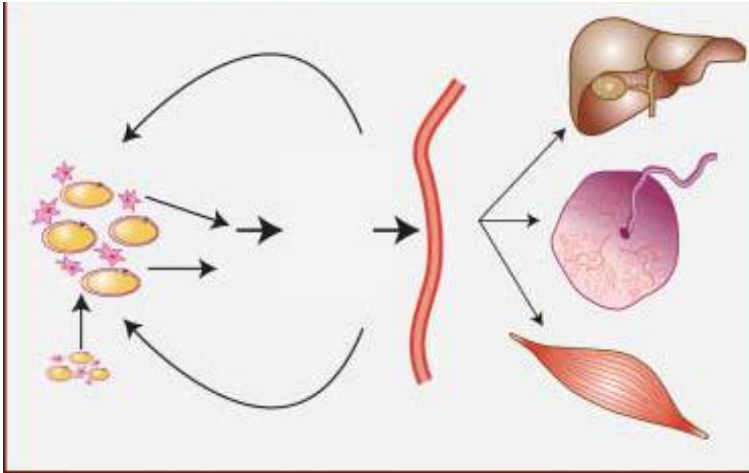


Fig 3. Effetto sistemico delle citokine prodotte nel tessuto adiposo

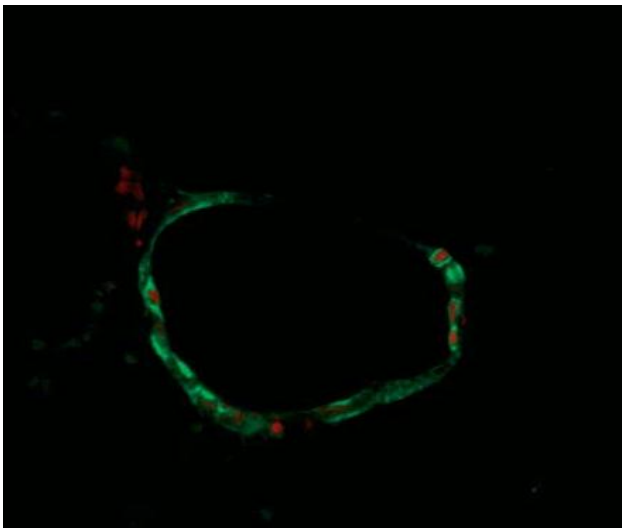


Fig 4. I macrofagi circondano gli adipociti in necrosi in strutture "crown-like"

Obesità: infiammazione a livello fetale e placentare

Recenti evidenze rivelano un trend di aumento del peso placentare in relazione al BMI materno pregravidico (28).

A livello microscopico, non esistono allo stato attuale studi che esaminino gli effetti dell'obesità materna sulla struttura placentare. Tuttavia, dati provenienti da placentate di donne affette da diabete gestazionale suggeriscono alterazioni morfologiche come immaturità, edema ed anomalie vascolari (29) che potrebbero essere presenti anche in placentate di donne obese.

Challier e collaboratori (30) hanno dimostrato un aumento di 2-3 volte dell'infiltrato macrofagico a livello placentare di gravidanze di donne obese rispetto alle normopeso. I macrofagi erano caratterizzati da un incremento di espressione di citokine infiammatorie tra cui IL-1, IL-6, TNF.

Un simile fenotipo placentare è stato recentemente dimostrato in studi condotti su babbuini obesi (31).

E' inoltre possibile che l'obesità materna possa alterare il numero e la funzione di altre cellule del sistema immunitario a livello dell'interfaccia materno-fetale come natural killer (NK) e cellule dendritiche (32).

L'obesità materna può inoltre alterare il trasporto placentare e la disponibilità di substrati.

Varastehpour e collaboratori (33) hanno recentemente dimostrato che la leptina e il TNF determinano un'attivazione tempo-dipendente di PLA2G2A e PLA2G5, due delle più importanti fosfolipasi placentari, suggerendo pertanto che l'infiammazione possa giocare un ruolo determinante nell'eccessivo accumulo di massa grassa in neonati di madri obese.

Inoltre, è stato dimostrato che IL-6 e TNF sono in grado di stimolare l'attività del sistema A di trasporto degli aminoacidi (27); l'obesità materna, caratterizzata da elevati livelli di queste citokine può pertanto modulare l'attività di questo trasportatore ed aumentare il trasporto placentare degli aminoacidi.

Anche le adipokine sono in grado di modulare le funzioni placentari; la leptina è in grado di modulare l'angiogenesi placentare (34), la sintesi proteica (35) e ha un effetto immunomodulatore (36). E' pertanto possibile che l'aumento dei livelli locali e circolanti di leptina possano modulare l'infiammazione e funzione placentare.

Lo status endocrino e nutrizionale di una donna obesa può contribuire allo sviluppo di un ambiente intrauterino che porta ad adattamenti metabolici fetali con

ripercussioni nella vita adulta, come suggerito dall'ipotesi di Barker (37,38); attraverso l'attivazione di pathways dell'infiammazione (39).

Un recente lavoro di Zhu (22) condotto su un modello animale di pecora gravida obesa, ha evidenziato a metà gravidanza un aumento significativo di acidi grassi liberi, trigliceridi e colesterolo fetali rispetto a feti di madri normopeso.

L'obesità materna aumenta i livelli placentari di mRNA di Toll-like receptor (TLR)-2, TLR-4 e di clusters di differenziazione dei macrofagi come CD 11b, CD14, CD 68.

Secondo un recente modello proposto, gli elevati livelli di acidi grassi liberi presenti a livello periferico materno determinano l'attivazione a livello placentare di Toll-like receptor (TLR)-4 e di segnali infiammatori che coinvolgono factor kappa B (NF- κ B) e Jun N-termini al kinase (JNK) con conseguente incremento di citochine infiammatorie come TNF- α , IL-6, IL-8. L'obesità materna può quindi determinare un'infiammazione fetale attraverso un processo infiammatorio placentare che ne compromette le funzioni di trasporto con conseguente alterazione dello sviluppo e crescita fetale (Fig 5).

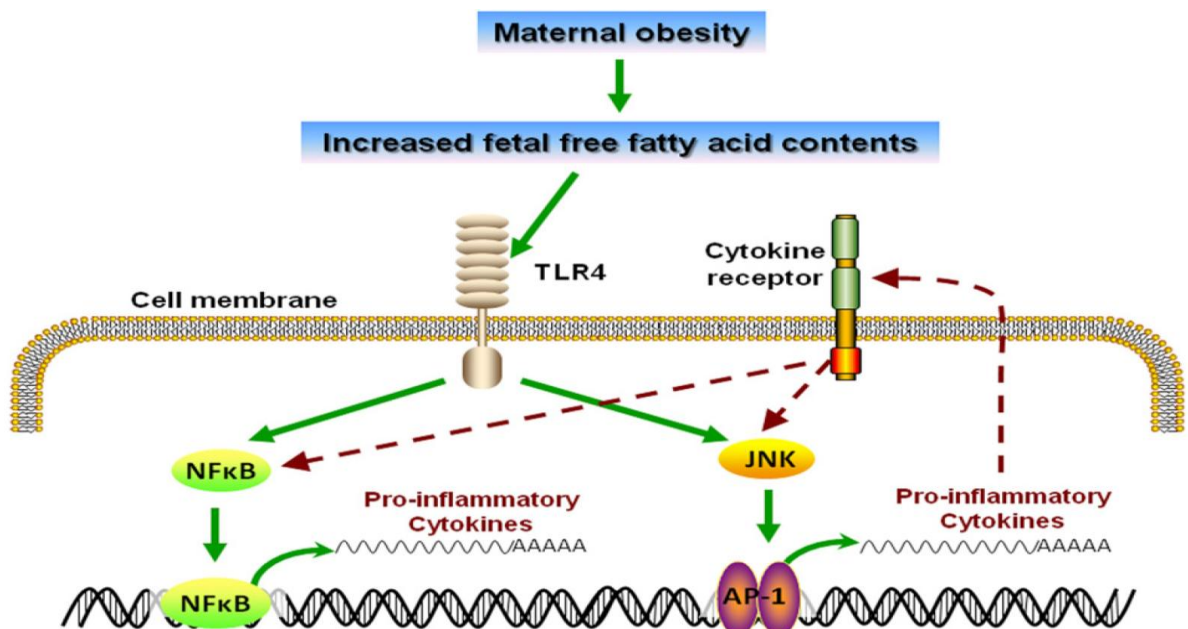


Fig 5. modello ipotetico di pathways infiammatorio che lega l'obesità materna all'infiammazione placentare e fetale

Obesità: infiammazione vascolare sistemica

Lo stato infiammatorio cronico di basso grado presente in condizioni di obesità è evidente non solo a livello del tessuto adiposo e a livello placentare, ma recenti studi indicano che l'infiammazione è presente anche a livello vascolare sistemico, si associa ad un infiltrato neutrofilo (40) ed in modo interessante la percentuale di vasi che esprimono markers dell'infiammazione (neutrofili, NfκB e COX2) è strettamente correlata con il BMI (Fig 6), aumentato progressivamente in condizioni di sovrappeso ed obesità. Nonostante la numerosità dello studio non fosse elevata, è stata evidenziata una correlazione tra peso materno e pressione arteriosa (in particolare tra pressione diastolica e BMI) e tra infiammazione vascolare e pressione arteriosa. In particolare, valori elevati di pressione arteriosa si correlavano positivamente con l'estensione dell'infiltrato neutrofilo e l'infiammazione vascolare. Pertanto, il fenotipo vascolare di una donna obesa risulta essere molto simile a quello di donne preeclamtiche suggerendo che l'infiammazione è meccanismo comune alla base di entrambe le patologie.

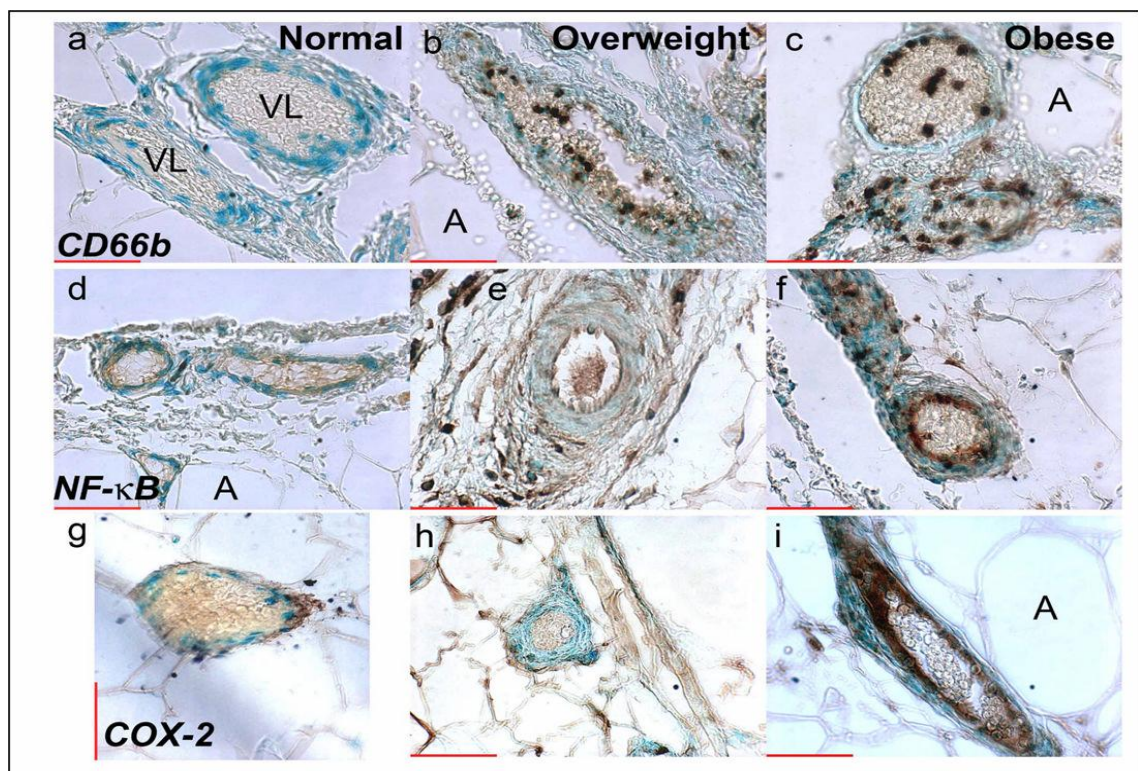


Fig. 6 Rappresentazione di espressione vascolare di CD66b, NF-κB and COX-2 in donne normopeso, sovrappeso ed obese

Pertanto, il fenotipo vascolare infiammatorio presente nelle donne obese, in associazione allo stress ossidativo imposto dalla placenta e all'incremento dell'infiltrato neutrofilo tipico della gravidanza può essere di entità tale da creare un'infiammazione vascolare sufficiente a determinare i sintomi tipici di preeclampsia.

Un modello proposto di infiammazione vascolare indotta dai neutrofili è mostrata nella figura sottostante (Fig 7).

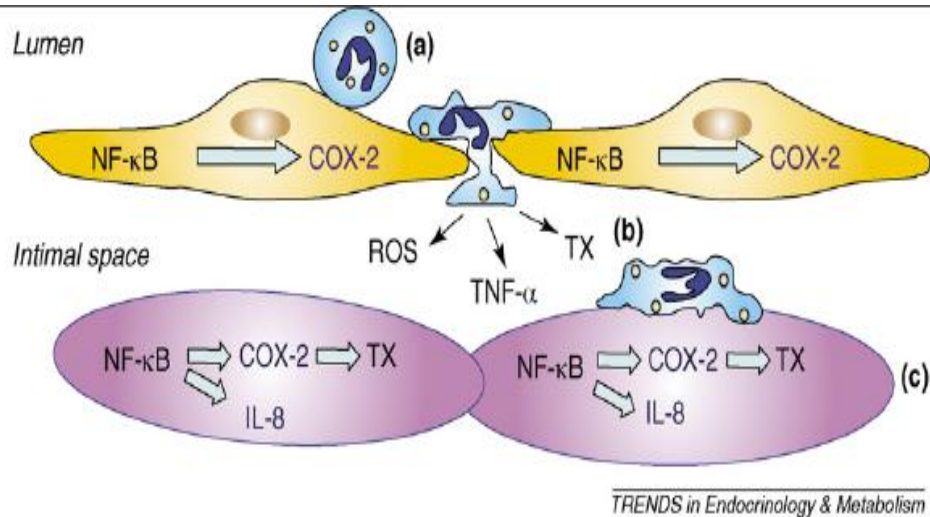


Fig 7 *Infiammazione vascolare mediata dai neutrofili presente nelle donne obese*

Come si evince dalla figura sovrastante, il rilascio di sostanze tossiche, tra cui specie reattive dell'ossigeno (ROS) e TNF- α , da parte dei neutrofili che hanno aderito all'endotelio ne determinano una disfunzione attraverso lo stress ossidativo e l'attivazione di NF κ B, portando all'espressione di geni dell'infiammazione come COX2 e IL-8. Inoltre, l'infiltrato neutrofilo a livello dell'intima può determinare l'infiammazione della muscolatura liscia vascolare e vasocostrizione attraverso il rilascio di COX2, TNF- α , trombossano (TX).

Tale processo presente nelle donne obese le espone quindi ad un maggior rischio di patologia infiammatoria vascolare e a complicanze ostetriche ad essa correlate; ciò è legato prevalentemente alla produzione di lipidi ossidati e ad un aumento dell'infiltrato neutrofilo a livello placentare. I lipidi ossidati sono dei potenti attivatori dei neutrofili, pertanto una loro aumentata produzione da parte della placenta determinerebbe un aumento dei neutrofili che passando attraverso lo spazio intervilloso e che raggiungono la circolazione materna, determinando un circolo vizioso a livello vascolare che amplifica e sostiene l'infiammazione.

placenta come organo di scambio metabolico

Nei mammiferi, la placenta costituisce un'interfaccia tra madre e feto, regola lo sviluppo intrauterino fornendo nutrienti e ossigeno necessari per l'accrescimento tissutale e il metabolismo fetale e produce e metabolizza ormoni necessari per una sua corretta crescita e sviluppo. Questi ormoni agiscono sia direttamente a livello fetale sia, indirettamente, vengono metabolizzati dalla madre e dalla placenta e sono in grado di modificare l'apporto di sostanze nutritive al feto.

Le diverse sostanze attraversano la barriera placentare (Fig 8) secondo diversi meccanismi; non esiste molecola a cui la placenta sia impermeabile in senso assoluto, ma i parametri di diffusione possono rendere il passaggio così lento da essere trascurabile.

Ad esempio, i gas attraversano la placenta con meccanismi di diffusione semplice; i carboidrati mediante meccanismi di diffusione facilitata; gli aminoacidi, con trasporto attivo (sistemi sia Na-dipendenti che Na-indipendenti); gli acidi grassi, per diffusione semplice e facilitata e le proteine (es. IgG, glicoproteine, albumine) mediante pinocitosi.

La placenta esercita pertanto un ruolo chiave e determinante nella crescita fetale fornendo i nutrienti ed ossigeno necessari, scambiandoli con i metaboliti di scarto che il feto stesso produce. Inoltre, l'apparato endocrino placentare gioca un ruolo fondamentale nell'adattamento materno alla gravidanza (es. accumulo lipidi come fonte di energia, nella prima parte della gravidanza), nel trasporto di nutrienti al feto ma anche contribuisce al metabolismo fetale mediante il rilascio di fattori di crescita.

Un corretto sviluppo e funzione placentare sono dunque fattori cruciali dello sviluppo fetale. Una corretta crescita fetale dipende da un efficiente rilascio dei nutrienti dalla madre ma richiede anche un corretto scambio transplacentare di sostanze ed una adeguata perfusione placentare.

La capacità della placenta di fornire sostanze nutritive al feto dipende pertanto da una serie di fattori tra cui dimensione, morfologia, flusso ematico, presenza di trasportatori, velocità di consumo/produzione di sostanze nutritive. Questi fattori sono strettamente correlati tra loro durante lo sviluppo intrauterino e possono venir modulati da cambiamenti ambientali materni e/o fetali (41) e giocare quindi un ruolo chiave nel *fetal programming*.

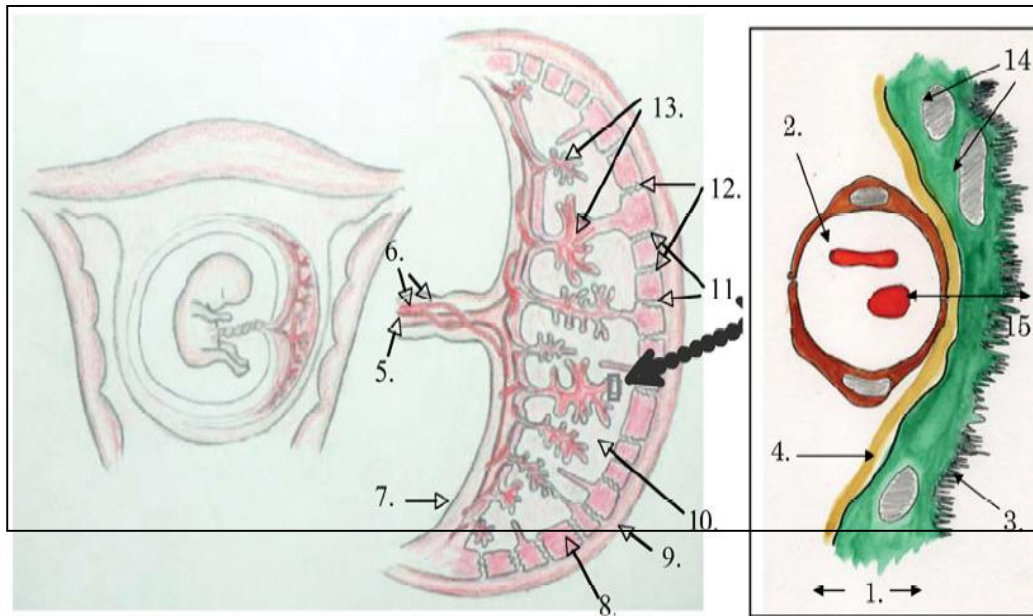


Fig 8 Struttura della placenta umana a termine. 1. Sinciziotrofoblasto; 2. Capillari fetali con eritrociti; 3. MVM; 4. BM; 5. Vena ombelicale; 6. Arterie ombelicali; 7. Corion; 8. Decidua; 9. Miometrio; 10. Spazio intervallare con sangue materno; 11. Vene; 12. Arterie spiraliformi; 13. Villi coriali; 14. Nuclei del sinciziotrofoblasto; 15. Distanza di diffusione tra sangue materno e sangue fetale. La figura a dx rappresenta una sezione ingrandita della barriera placentare.

crescita fetale e biometria placentare

La crescita fetale è un processo complesso dovuto all'interazione di fattori genetici e ambientali (Fig 9). La placenta svolge un ruolo chiave e determinante per lo scambio di gas e nutrienti ma è in grado di influenzare la crescita fetale anche grazie al suo proprio metabolismo.

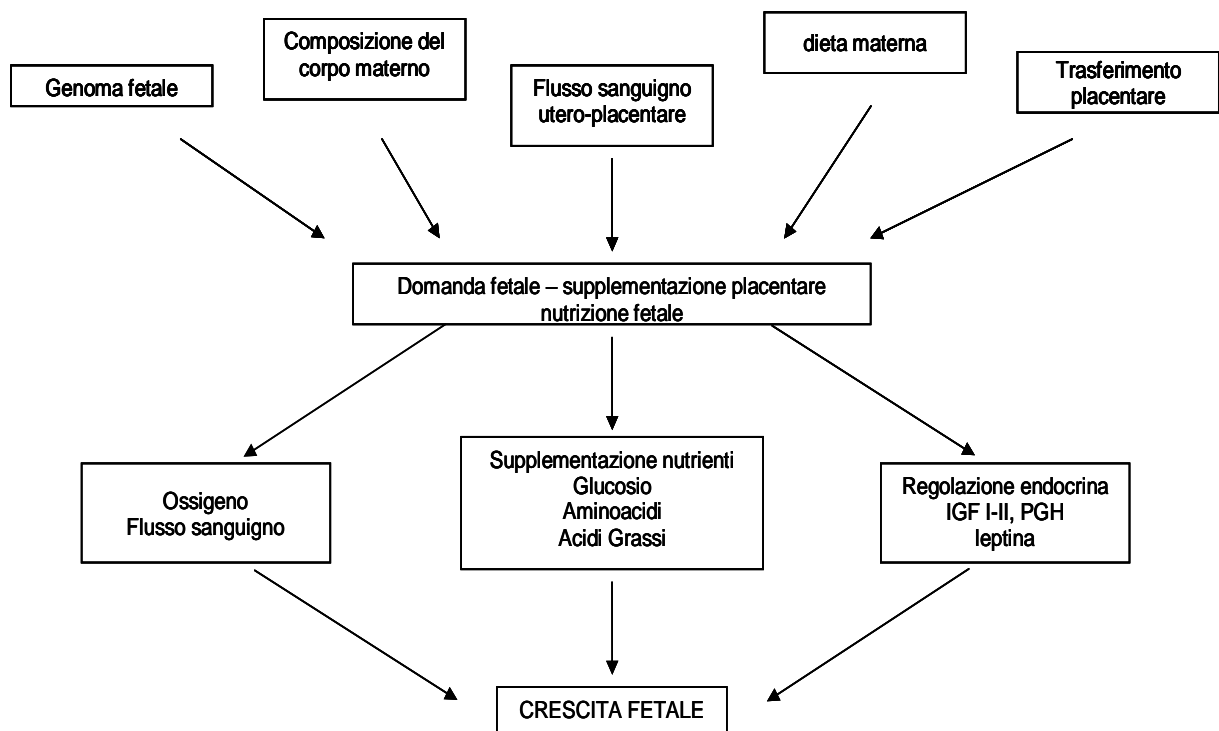


Fig 9 Principali fattori che influenzano nutrizione e crescita fetale

Molto schematicamente si può affermare che nella prima metà della gravidanza la crescita del feto si verifica per iperplasia, cioè per moltiplicazione cellulare, mentre nella seconda metà sono prevalenti i fenomeni di ipertrofia, cioè di aumento delle dimensioni cellulari. Il momento e le modalità di passaggio dalla fase dell'iperplasia a quella dell'ipertrofia presentano una variabilità diversa per i diversi organi e tessuti, così come vi sono ampie sovrapposizioni dei due fenomeni. La fase dell'iperplasia determina il potenziale di crescita dell'organo.

Alterazioni della crescita fetale si correlano ad un maggior rischio di patologia perinatale e neonatale predisponendo l'individuo a patologie cardiovascolari e metaboliche, sia durante l'infanzia che nella vita adulta. L'adattamento fetale ad un ambiente intrauterino avverso, può comportare cambiamenti permanenti nella struttura e nella funzione di cellule, tessuti ed organi, aumentando la suscettibilità allo sviluppo della sindrome metabolica (38).

Dal punto di vista nutrizionale, il feto dipende dalla disponibilità di substrati nutrizionali materni, dal metabolismo materno (adattamento materno alla gravidanza, eventuale predisposizione a patologie placentari che ne modifichino il normale sviluppo), dal trasporto ed il metabolismo placentare, e dal proprio metabolismo (Fig 10)

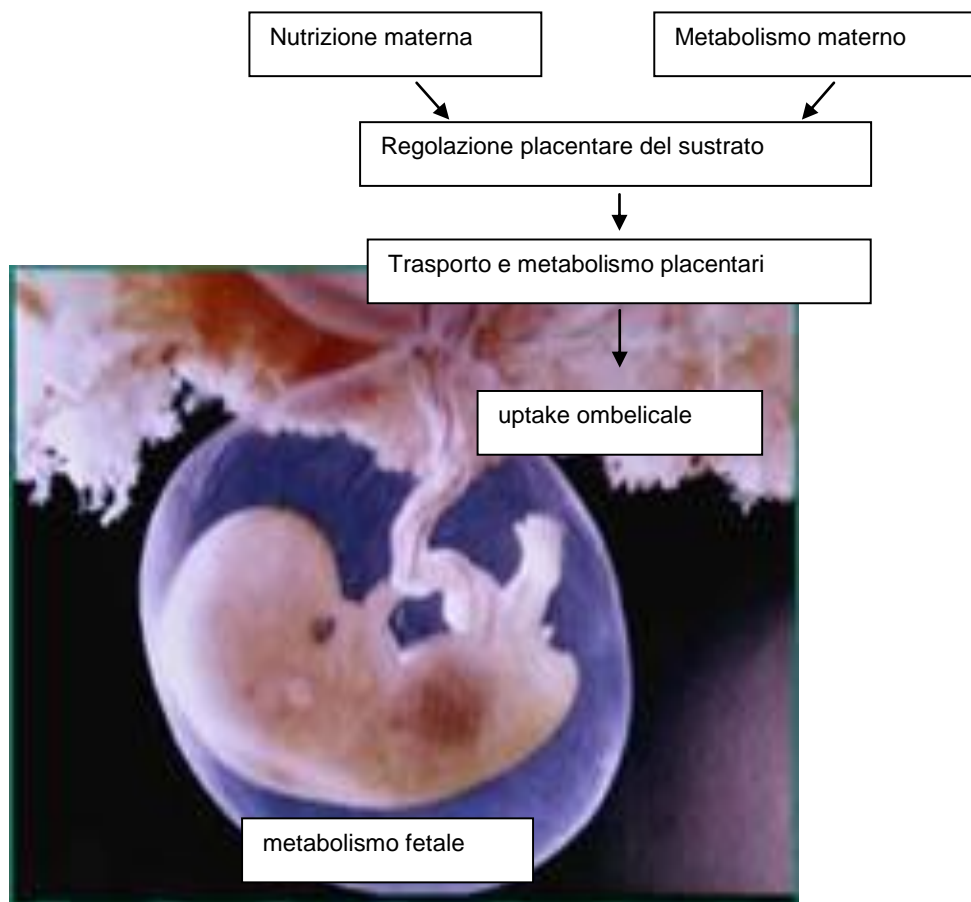


Figura 10 Fattori che regolano la crescita intrauterina

Fattori materni e placentari interagiscono in modo complesso e determinano un diverso pattern di crescita fetale. Si definisce comunemente modello della gravidanza a tre compartimenti: madre-placenta-feto, ognuno con il proprio metabolismo e interagenti l'uno con l'altro.

È probabile che la prima fase della crescita intrauterina sia principalmente controllata da fattori genetici e che fattori ambientali (nutrizione materna, vascolarizzazione utero-placentare e feto-placentare) intervengano più tardivamente.

Diversi studi hanno dimostrato la correlazione tra peso placentare e il peso fetale come fattore determinante del benessere fetale; in particolare il peso fetale aumenta con l'aumentare del peso placentare.

È stato dimostrato che il basso peso alla nascita, corretto per epoca gestazionale si associa ad un maggior rischio di sviluppare complicanze ipertensive nella vita adulta (42, 43); ed in particolare è stata evidenziata una associazione tra ridotta superficie placentare e aumentato rischio di ipertensione (44, 45).

Barker e collaboratori hanno analizzato i parametri placentari (peso e superficie) in una popolazione di adulti finlandesi nati nel decennio 1934-44. Negli individui le cui madri avevano un'altezza inferiore a 160 cm, l'incidenza di ipertensione era del 38% se la superficie della placenta è di 200 cm² o inferiore, e del 21% qualora l'area sia superiore a 320 cm². Tali associazioni si sono rivelate più forti nei figli nati da madri di altezza inferiore alla media o provenienti da ceti meno abbienti (e dunque verosimilmente con una nutrizione non appropriata). Non vi era al contrario alcun effetto complessivo della superficie placentare sull'ipertensione nei figli di madri alte e di classe sociale medio-alta, che presumibilmente erano le nutrite in modo più appropriato. Dunque, l'ipertensione sembrava essere associata ad una malnutrizione materna con conseguenze a livello della struttura placentare.

Questi dati conducono alla teoria del "fetal programming", secondo la quale durante la vita fetale si instaurano meccanismi che comportano una modifica permanente di organi e sistemi che regolano, per esempio, la pressione arteriosa. Questi cambiamenti possono includere ad esempio un numero ridotto dei nefroni (46).

In un altro lavoro, lo stesso gruppo ha dimostrato che anche le placente di gravidanze complicate da preeclampsia (47) presentano una superficie placentare ridotta rispetto alle gravidanze fisiologiche (45). Lo spessore delle placente di donne con preeclampsia severa risultava inoltre maggiore rispetto ai controlli. E' stato

ipotizzato che l'aumento dello spessore placentare nella preeclampsia rappresenti un meccanismo di compenso alla riduzione della superficie.

È noto che negli esseri umani la dimensione placentare è influenzata da diversi fattori materni. L'anemia ed un alto BMI materni alterano il rapporto tra il peso placentare ed il peso fetale alla nascita. Il fumo materno riduce il peso della placenta e aumenta il rapporto tra peso fetale e peso placentare. I meccanismi che mediano queste risposte sono in gran parte sconosciuti, e gli effetti di queste risposte sull'area placentare e sullo spessore devono ancora essere oggetto di studi approfonditi (48).

Non solo quindi il peso placentare ma anche altri parametri come superficie, spessore, diametri, efficienza placentare sono fattori determinanti nello scambio di nutrienti e ossigeno tra la madre ed il feto e condizionano la capacità endocrina della placenta stessa.

obesità e biometria placentare

La madre rappresenta un'importante fonte di nutrienti per la crescita fetale, ma le caratteristiche materne in grado di determinare la morfologia placentare non sono state a tutt'oggi oggetto di studio approfondito.

Uno studio recente (49), dimostra che la percentuale di massa grassa, che esprime lo stato attuale nutrizionale materno, si correla positivamente con le dimensioni, la superficie ed efficienza placentare; gli autori concludono pertanto che lo stato nutrizionale materno è in grado di determinare alterazioni nella forma e dimensioni della placenta, di influenzare gli scambi materno-fetali come conseguenza di una maggiore efficienza placentare. Da sottolineare che nella popolazione selezionata sono state considerate donne non in condizioni di sovrappeso o obesità.

Tuttavia a tutt'oggi esistono pochi dati in letteratura sulla morfologia e funzione placentare, in condizioni di obesità.

Due recenti lavori (50,51) hanno dimostrato che le funzioni e la biometria placentare sono alterate in presenza di una dieta non bilanciata, dimostrando per la prima volta che il BMI materno pregravidico si associa positivamente al peso placentare, ipertrofia e peso fetale ma negativamente all'efficienza placentare, espressa come rapporto tra peso fetale e peso placentare (F/P), suggerendo che l'essere sovrappeso o obesa implica un maggior peso placentare ma con efficienza placentare minore.

In modo interessante, i fattori predittivi di ipertrofia placentare erano rappresentati dal BMI pregravidico e dall'incremento di peso in gravidanza (50).

Ad ogni incremento di unità del BMI pregravidico vi era un incremento dal 4 al 10% di probabilità di ipertrofia placentare; in modo simile, per ogni kg di incremento ponderale vi era un incremento dal 3 al 7% di probabilità di ipertrofia placentare.

sexo fetale e biometria placentare

Differenze legate al sesso sono presenti in alcune patologie come sindrome metabolica, ipertensione, malattie cardiovascolari, malattie neurologiche e psichiatriche e cancro.

In molti casi, la suscettibilità a queste patologie origina precocemente nello sviluppo dell'individuo, già nella vita intrauterina.

Differenze legate al sesso possono risultare da differenze genetiche ed ormonali e da diverso adattamento a fattori ambientali tra cui infezioni, dieta, droghe e stress.

Differenze negli outcomes fetali e neonatali in relazione al sesso fetale sono ben descritte in letteratura.

Studi condotti su gravidanze gemellari offrono l'opportunità di analizzare i meccanismi alla base delle differenze negli outcomes neonatali in relazione all'altro sesso del feto.

Steen e collaboratori (52) hanno analizzato una coorte di 16,045 gravidanze gemellari in relazione a complicanze ostetriche, mortalità e morbilità perinatale e neonatale.

Le gravidanze con un feto di sesso femminile erano a rischio aumentato di preeclampsia ma non vi erano differenze in complicanze ostetriche in relazione al sesso dell'altro feto.

I gemelli femmina-femmina mostravano mortalità neonatale e infantile inferiore, con un rischio inferiore di morbilità respiratorie rispetto ai gemelli maschi-maschi a tutte le epoche gestazionali.

In presenza di gemelli discordanti i feti pretermine di sesso maschile erano più a rischio di complicanze respiratorie mentre quelli di sesso femminile erano più a rischio di ritardo di crescita intrauterino.

Melamed e collaboratori (53) hanno analizzato retrospettivamente 66,387 gravidanze singole (51.8% maschi e 48.2% feti di sesso femminile) durante un periodo di 11 anni. In modo analogo, gli autori concludono che sebbene l'incidenza di parto

pretermine e taglio cesareo fossero più alti in presenza di feti di sesso maschile, i feti di sesso femminile erano maggiormente a rischio di ritardo di crescita intrauterino (IUGR).

Ulteriori studi sono tuttavia necessari per determinare i meccanismi alla base delle complicanze ostetriche sesso-correlate.

Anche differenze riguardo al peso neonatale sono ben descritte; i neonati di sesso maschile generalmente presentano pesi maggiori, hanno placente di peso più elevato e più efficienti rispetto a quelle di feti di sesso femminile.

A 40 settimane il peso medio placentare risulta maggiore di 15 gr nelle placente con feti di sesso maschile rispetto a quelle con feti di sesso femminile sia nelle nullipare che nelle multipare (54) in accordo con studi precedenti (55, 56).

Nonostante il meccanismo alla base di una più elevata velocità di crescita a livello dell'unità feti-placentare in feti di sesso maschile non sia conosciuta, differenze legate al sesso sono state riportate negli stadi precoci di sviluppo della blastocisti in diverse specie tra cui l'uomo (57). Pertanto, insulti durante il processo di differenziazione della blastocisti potrebbero alterare la crescita fetale e placentare in maniera sesso-dipendente.

A termine di gravidanza il rapporto F/P è più elevato in presenza di feti di sesso maschile ma la differenza risulta essere di piccola entità. La maggior differenza è presente tra 28 e 34 settimane e più probabilmente riflette una più elevata velocità di crescita in presenza di feti maschili, durante questo periodo di crescita esponenziale, piuttosto che un effetto del trasporto placentare di nutrienti *per se*'.

Un più elevato rapporto F/P indica che i feti di sesso maschile investono maggiormente nella placentazione rispetto ai feti di sesso femminile, privilegiando la crescita fetale rispetto a quella placentare ma rendendosi più vulnerabili a improvvisi cambiamenti nell'apporto di nutrienti (58).

Evidenze emergenti suggeriscono una relazione sesso correlata tra differenti influenze ambientali e differenti adattamenti della funzione placentare, lo sviluppo di esiti avversi della gravidanza e rischio di sindrome metabolica nella vita adulta (59).

L'esistenza di geni X-linked coinvolti nella placentogenesi e l'ineguale espressione genica tra maschi e femmine a livello dei cromosomi sessuali può spiegare il diverso adattamento e i diversi pathways ad insulti ambientali. Adattamenti placentari sesso-correlati ad insulti esterni possono essere cruciali per differenze nella crescita e sopravvivenza fetale.

Tuttavia, nonostante i recenti sviluppi in questo campo, conosciamo ancora poco sui meccanismi sottostanti.

Clifton e collaboratori (60) hanno analizzato gravidanze complicate da asma e hanno notato differenze negli outcomes fetali e neonatali in relazione al sesso fetale; i feti di sesso maschile determinavano adattamenti nella funzione placentare per consentire una normale crescita fetale in un ambiente materno avverso mentre i neonati di sesso femminile riducevano la propria crescita fetale nel tentativo di sopravvivere ad ulteriori insulti materni. Ciò potrebbe essere legato a differenze sesso-correlate nell'espressione di citokine placentari e insulin-like growth factors in risposta ad alti livelli di cortisolo presenti nell'asma in gravidanza.

Studi epidemiologici (61) hanno dimostrato che l'incidenza di parto prematuro era maggiore in gravidanze con feti di sesso maschile e che il rapporto m/f era ancora maggiore in condizioni di grave prematurità, a dimostrazione che in presenza di un feto di sesso maschile il trofoblasto ha la capacità di generare un ambiente intrauterino maggiormente pro-infiammatorio tramite la produzione di TNF- α , prostaglandine sintetasi (PTGS-2) e meno citokine anti-infiammatorie come IL-10 e prostaglandine deidrogenasi (PGDH).

Anche la maturazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrenalico fetale e l'espressione di geni placentari, tra cui in particolare 11 β OH-steroido-deidrogenasi, sono espressi in maniera differente e dipendente dal sesso fetale.

Mentre esistono studi che analizzano gli effetti del sesso fetale sullo sviluppo e crescita fetale e sui diversi pathways di espressione genica sesso-dipendenti, le differenze legate al sesso in relazione all'obesità materna devono ancora essere valutate.

L'obesità materna rappresenta uno stato infiammatorio di basso grado che può potenzialmente influire negativamente sulla struttura e funzione placentare in maniera dipendente dal sesso fetale, determinando outcomes neonatali sfavorevoli.

SCOPO DELLA TESI

Lo scopo dello studio è stato di caratterizzare i parametri biometrici materni, placentari e fetali in gravidanze di donne normopeso, sovrappeso ed obese con outcomes ostetrici favorevoli.

E' stato inoltre valutato un possibile ruolo del sesso fetale negli adattamenti fetali e placentari allo stato infiammatorio cronico di basso grado tipico del sovrappeso ed obesità.

MATERIALI E METODI

raccolta del materiale

Nel periodo compreso tra aprile 2010 e dicembre 2013 sono state arruolate al parto un totale di 699 donne di cui:

- 536 normopeso, definite come BMI pregravidico compreso tra $18 < \text{BMI} < 25$ kg/m^2
- 115 sovrappeso con $25 \leq \text{BMI} < 30$ kg/m^2
- 48 obese con $\text{BMI} \geq 30$ kg/m^2

Lo studio è stato condotto presso L'U.O. di Ostetricia e Ginecologia dell'Ospedale L. Sacco di Milano a seguito di approvazione dal comitato etico locale ed è stato oggetto di finanziamento dal "PRIN 2010-2011 (prot. 20102CHST5_005): "Parto pretermine: markers molecolari, biochimici e biofisici dell'unità feto-placentare".

Sono state incluse nello studio gravidanze spontanee, singole, con parto spontaneo o taglio cesareo senza complicanze ostetriche; da parte di tutte le pazienti è stato acquisito consenso informato.

Sono state escluse dallo studio gravidanze complicate da patologie materne, anomalie di placentazione, complicanze ostetriche come preeclampsia, ipertensione gestazionale, diabete gestazionale, ritardo di crescita intrauterino, distacco di placenta, esiti avversi neonatali e curva da carico orale con 75 gr di glucosio patologica. Sono stati inoltre escluse dallo studio gravidanze con feti portatori di anomalie cromosomiche, malformazioni e/o infezioni.

Tutte le donne hanno eseguito il test da carico orale con 75 gr di glucosio, in accordo con i criteri IADPSG (62). In presenza di 1 o più valori patologici o in presenza di una glicemia basale ≥ 92 mg/dl in due occasioni il test è stato considerato positivo.

Al momento del parto sono stati raccolti dati materni (età, altezza, BMI, incremento ponderale, emoglobina e glicemia) e dati fetali (peso, sesso, lunghezza, circonferenza cranica, indice ponderale, emogas analisi al parto).

Il PI (Ponderal Index) fetale è stato calcolato secondo la seguente formula:

$$\frac{100 \times \text{BW (Body Weights) (g)}}{\text{BL (Body Length) (cm)}^3}$$

I dati placentari (peso, diametri maggiore e minore, spessore, area, rapporto F/P) sono stati raccolti secondo le modalità previste dal nostro protocollo di seguito esemplificato.

Prima della misurazione la placenta è stata ispezionata da entrambi i versanti (materno e fetale) (Fig 11) e sono stati rimossi il cordone ombelicale e le membrane (Fig 12-13); il sangue materno e placentare è stato quindi successivamente tamponato (Fig 14).

Si è quindi proceduto alla misurazione del diametro maggiore e minore dal lato fetale della superfici placentare (Fig 15), la placenta è stata quindi pesata ed il peso è stato espresso in grammi.

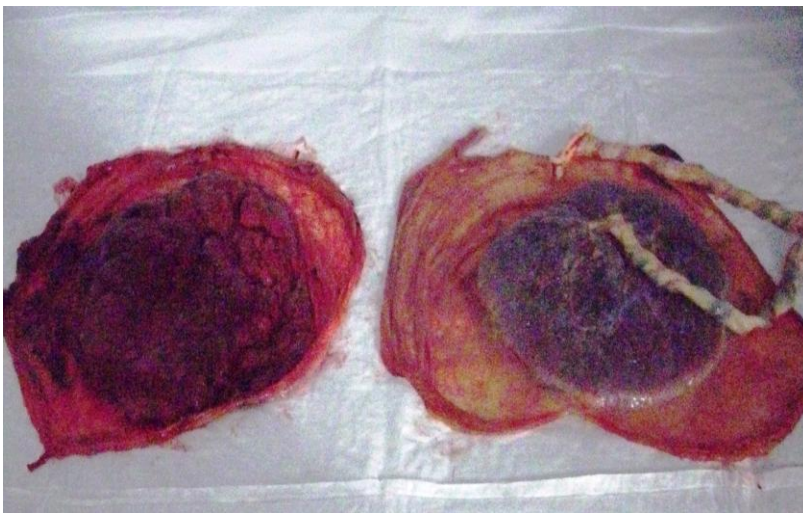


Fig 11 Placenta: il lato materno (a sinistra) ed il lato fetale (a destra)



Fig 12 Il cordone ombelicale viene tagliato



Fig 13 Le membrane vengono tagliate

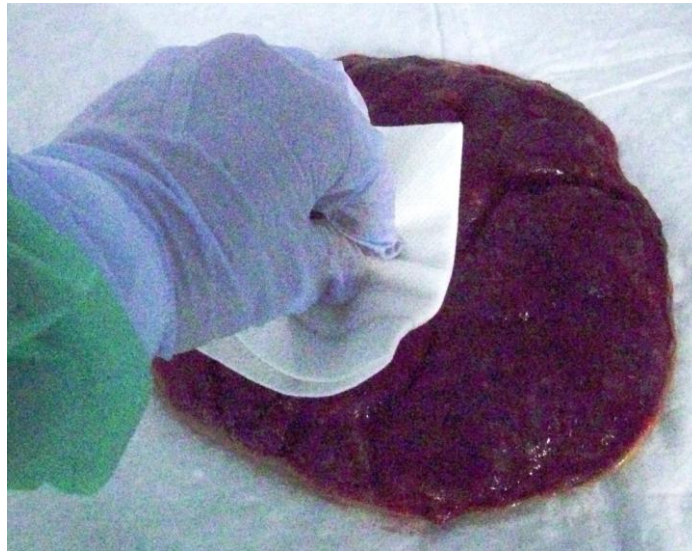


Fig 14 Il sangue materno e fetale viene tamponato



Fig 15 Misurazione del diametro minore e maggiore della placenta

Ipotizzando una superficie placentare ellittica, la SUPERFICIE placentare è stata calcolata secondo la formula: diametro maggiore (D) x diametro minore (d) x $\pi / 4$.
Assumendo una densità costante lo SPESSORE placentare è stato espresso come:
peso placentare/superficie placentare (44) .

L'EFFICIENZA PLACENTARE è stata infine valutata come rapporto tra peso fetale/peso placentare (F/P ratio); tale rapporto è ampiamente usato in letteratura come indice di efficienza placentare (44, 51, 62).

La figura sottostante (Fig 16) rappresenta la scheda utilizzata per la raccolta dei dati placentari, materni e neonatali.

Data Misurazione _____

Nome Cognome _____

Cartella Clinica _____

Dati Materni	Tipo	
	Data Parto	
	Epoca Gestazionale	
	Età materna	
	Altezza materna (m)	
	Peso pre-gravidico (kg)	
	<i>BMI</i>	
	Emoglobina	
	Ematocrito	
	Glicemia	
	Curva Glicemica	
	Fumo	
	Razza	
	Note	
Dati Fetali	Peso fetale (g)	
	Lunghezza fetale (cm)	
	<i>Indice Ponderale (g/cm³)</i>	
	Circonferenza cranica	
	Sesso	
Emogas af	pO ₂ (mmHg)	
	pCO ₂ (mmHg)	
	pH	
	Glucosio (mg/dl)	
Dati Placenta	Peso Placenta (g)	
	Diametro Maggiore (cm)	
	Diametro Minore (cm)	
	<i>Area (cm²)</i>	
	<i>Spessore (cm)</i>	
	Numero Cotiledoni	

Fig 16 Scheda con i dati materni, neonatali e placentari rilevati

ANALISI STATISTICA

I dati sono stati espressi come medie \pm DS. Le differenze tra i gruppi sono state valutate con test-t di Student's e la probabilità $p < 0.05$ è stata considerata statisticamente significativa.

Le medie, le deviazioni standard e i t-test sono stati usati considerando le variabili come continue e sono state approssimate ad una normale distribuzione.

RISULTATI

caratteristiche materne, fetali e placentari in donne sovrappeso, obese e normopeso

La tabella 1 mostra i dati materni, fetali e placentari in gravidanze di donne obese e sovrappeso rispetto alle normopeso.

Tab 1	NORMOPESO (n=536)	SOVRAPPESO (n=115)	OBESE (n=48)
		* <i>p</i> <0.05 ** <i>p</i> <0.01 <i>vs normopeso</i>	* <i>p</i> <0.05 ** <i>p</i> <0.01 <i>vs normopeso</i>
<i>Dati materni</i>	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>
Epoca gestazionale (sett)	39,60±0,97	39,70±1,00	39,85±0,99
Età materna (anni)	31,50±5,78	31,10±6,28	31,21±5,34
Altezza materna (m)	1,64±0,62	1,63±0,07	1,63±0,06
BMI (kg/m ²)	21,46±1,83	26,73±1,40	34,64±5,05
Incremento ponderale (kg)	13,50±4,40	12,90±5,80	8,40±7,30 **
Hb (g/dl)	11,46±1,22	11,35±1,20	11,03±1,18 *
Ht (%)	34,27±3,34	34,11±3,37	33,16±3,13 *
glicemia (g/dl)	78,99±10,61	80,41±13,67	79,21±9,73
<i>Dati fetali</i>			
Peso fetale (g)	3344,00±385,71	3435,00±392,11 *	3477,00±434,21 *
Lunghezza fetale (cm)	49,83±1,86	50,29±1,82 *	50,15±2,01
Indice ponderale (g/cm ³)	2,70±0,23	2,70±0,24	2,75±0,22
Circonf cranica (cm)	34,06±1,99	34,56±1,28**	34,64±1,33**
<i>Emogas arteria ombelicale</i>			
pO ₂ (mmHg)	18,89±9,76	18,63±8,41	19,62±9,76
pCO ₂ (mmHg)	47,38±10,78	47,11±9,26	46,26±11,29
pH	7,31±0,88	7,32±0,07	7,33±0,08
Glucosio (g/dl)	80,45±21,66	76,85±23,03	78,00±21,19
<i>Dati placentari</i>			
Peso placenta (g)	434,24±92,47	461,69±93,48**	441,81±82,97
Diametro maggiore (cm)	20,42±2,76	20,77±2,78	20,50±2,30
Diametro minore (cm)	16,82±2,21	16,74±1,93	16,74±1,62
Area (cm ²)	272,56±64,85	274,03±54,94	270,01±43,63
Spessore (cm)	1,64±0,36	1,72±0,37 *	1,65±0,27
Ratio F/P	7,96±1,41	7,64±1,26 *	8,04±1,24

In gravidanze di donne in sovrappeso ed obese il peso fetale e la circonferenza cranica (CC) sono risultate significativamente maggiori rispetto alle normopeso (3435,00 gr \pm 392,11 e 3477,00 gr \pm 434,21 vs 3344,00 gr \pm 385,71 p<0,05; 34,56 cm \pm 1,28 e 34,64 cm \pm 1,33 vs 34,06 cm \pm 1,99 p<0,01, rispettivamente) in accordo con i dati della letteratura (51).

Il peso placentare è risultato significativamente maggiore nelle donne sovrappeso (461,69 gr \pm 93,48 vs 434,24 gr \pm 92,47 p<0,01) ma non nelle obese, pur mostrando un trend in aumento; inoltre le placente di donne sovrappeso sono risultate avere spessore maggiore (1,72 cm \pm 0,37 vs 1,64 cm \pm 0,36 p <0,05) e rapporto F/P (7,64 \pm 1,26 vs 7,96 \pm 1,41 p <0,05) inferiore rispetto alle normopeso; non differenze significative erano presenti per la superficie.

I dati materni dimostrano che l'incremento ponderale in gravidanza era significativamente minore nelle donne obese rispetto alle normopeso (8,40 kg \pm 7,30 vs 13,50 kg \pm 4,40 p <0,01) ; non differenze erano presenti nelle donne in sovrappeso.

I livelli di Hb ed ematocrito materni nel gruppo di donne obese erano inferiori rispetto alle normopeso (11,03 gr/dl \pm 1,18 vs 11,46 gr/dl \pm 1,22 p <0,05; 33,16 % \pm 3,13 vs 34,27 % \pm 3,34 p <0,05), essendo probabilmente l'espressione di un peggiore stato nutrizionale.

Non differenze significative erano presenti nei tre gruppi per quanto concerne i livelli di glucosio materni, in accordo con i criteri d'inclusione dello studio.

Caratteristiche materne, fetali e placentari sesso-correlate (maschi e femmine) in donne sovrappeso ed obese vs normopeso

Le tabelle 2 analizzano le principali caratteristiche materne, fetali e placentari in donne sovrappeso, obese e normopeso in relazione al sesso fetale, maschile (tab 2a) e femminile (tab 2b).

In modo interessante, nel gruppo di gravidanze con feti di sesso *maschile* (tab 2a) non vi erano differenze significative nei principali parametri materni, fetali e

placentari nei tre gruppi considerati (tab 2a) ad eccezione della CC che risultava significativamente maggiore nel gruppo sovrappeso ed obeso.

Tab 2a	NORMOPESO MASCHI (n=284)	SOVRAPPESO MASCHI (n=59)	OBESE MASCHI (n=25)
		* $p<0.05$ ** $p<0.01$ vs normopeso maschi	* $p<0.05$ ** $p<0.01$ vs normopeso maschi
Dati materni	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>
Epoca gestazionale (sett)	39,62±0,95	39,64±0,92	40,02±1,06
Età materna (anni)	31,50±5,63	31,86±6,85	31,64±5,77
Altezza materna (m)	1,64±0,06	1,63±0,08	1,62±0,06
BMI (kg/m ²)	21,39±1,75	26,57±1,19	33,67±4,27
Incremento ponderale (kg)	13,30 ±4,20	13,17±5,80	9,30±6,30
Hb (g/dl)	11,51±1,17	11,65±1,13	11,01±1,19
Ht (%)	34,38±3,16	34,66±3,17	33,19±3,23
glicemia (g/dl)	78,18±8,30	80,81±16,29	76,65±6,93
Dati fetali			
Peso fetale (g)	3390,98±385,46	3472,54±433,48	3440,76±502,01
Lunghezza fetale (cm)	50,24±1,85	50,44±1,70	50,12±2,26
Indice ponderale (g/cm ³)	2,67±0,22	2,70±0,25	2,73±0,26
Circonf cranica (cm)	34,39±1,19	34,88±1,21**	34,92±1,40**
Emogas arteria ombelicale			
pO ₂ (mmHg)	19,41±10,97	16,93±7,25*	16,58±6,81
pCO ₂ (mmHg)	47,18±11,34	48,37±9,51	49,29±11,34
pH	7,31±0,09	7,30±0,07	7,32±0,09
Glucosio (g/dl)	81,40±22,56	75,09±24,88	76,14±21,09
Dati placentari			
Peso placenta (g)	442,11±91,26	447,31±94,66	430±74,7
Diametro maggiore (cm)	20,63±2,61	20,69±2,65	20,97±2,43
Diametro minore (cm)	16,88±2,17	16,69±2,11	16,4±1,80
Area (cm ²)	275,96±61,49	272,57±56,18	272±47,2
Spessore (cm)	1,64±0,34	1,68±0,38	1,6±0,31
Ratio F/P	7,91±1,39	7,95±1,19	8,13±1,21

Al contrario, le donne sovrappeso ed obese con feti di sesso *femminile* (2b) presentavano pesi fetali (3396,00 gr±341,01 e 3516,00 gr±352,05 vs 3289,00 gr±379 p<0,05 e p<0,01 rispettivamente), lunghezza fetale (50,10 cm±1,91 e 50,21 cm±1,71 vs 49,40 cm±1,77 p<0,05) e CC (34,21 cm±1,27 e 34,30 cm±1,21 vs 33,69 cm±33,50 p<0,05) maggiori rispetto alle normopeso.

Tuttavia, solo le placente di donne sovrappeso e non obese, mostravano placente di peso ($477,02 \text{ gr} \pm 90,61$ vs $424,03 \text{ gr} \pm 92,00$ $p < 0,01$) e spessore maggiore ($1,81 \text{ cm} \pm 0,37$ vs $1,64 \text{ cm} \pm 0,39$ $p < 0,05$) ma con minor efficienza placentare ($7,32 \pm 1,26$ vs $8,01 \pm 1,43$ $p < 0,01$) rispetto alle normopeso.

I dati materni, in accordo alla popolazione generale della tabella 1, indicano che l'incremento ponderale in gravidanza era inferiore nelle obese ($7,30 \text{ kg} \pm 8,50$ vs $13,80 \text{ kg} \pm 4,70$ $p < 0,01$) rispetto alle normopeso.

Nella sottopolazione selezionata (feti femmine) i livelli di Hb raggiungevano valori inferiore solo nelle sovrappeso ($11,01 \text{ gr/dl} \pm 1,20$ vs $11,43 \text{ gr/dl} \pm 1,25$ $p < 0,05$) vs normopeso, ma non nelle obese.

Non differenze erano presenti nei livelli emogasanalitici fetali nei tre gruppi considerati.

Tab 2b	NORMOPESO FEMMINE (n=250)	SOVRAPPESO FEMMINE (n=56)	OBESE FEMMINE (n=23)
	* <i>p</i> <0.05 ** <i>p</i> <0.01 <i>vs normopeso femmine</i>	* <i>p</i> <0.05 ** <i>p</i> <0.01 <i>vs normopeso femmine</i>	* <i>p</i> <0.05 ** <i>p</i> <0.01 <i>vs normopeso femmine</i>
<i>Dati materni</i>	<i>medie</i> ± <i>DS</i>	<i>medie</i> ± <i>DS</i>	<i>medie</i> ± <i>DS</i>
Epoca gestazionale (sett)	39,60±0,97	39,70±1,10	39,7±0,9
Età materna (anni)	31,40±0,87	30,40±5,60	30,74±4,9
Altezza materna (m)	1,64±0,06	1,60±0,07	1,6±0,06
BMI (kg/m ²)	21,56±1,90	26,90±1,60	35,7±5,7
Incremento ponderale (kg)	13,8±4,70	12,51±6,01	7,30±8,50**
Hb (g/dl)	11,43±1,25	11,01±1,20*	11,15±1,20
Ht (%)	34,19±3,43	33,46±3,52	33,01±3,10
glicemia (g/dl)	79,91±12,70	80,01±10,90	81,81±11,60
<i>Dati fetali</i>			
Peso fetale (g)	3289,00±379,00	3396,00±341,01*	3516,00±352,05**
Lunghezza fetale (cm)	49,40±1,77	50,10±1,91*	50,21±1,71*
Indice ponderale (g/cm ³)	2,73±0,24	2,70±0,23	2,78±0,17
Circonf cranica (cm)	33,69±2,50	34,21±1,27*	34,30±1,21*
<i>Emogas arteria ombelicale</i>			
pO ₂ (mmHg)	18,42±8,10	20,36±9,20	22,78±11,28
pCO ₂ (mmHg)	47,60±10,20	45,80±8,90	43,09±10,57
pH	7,32±0,08	7,33±0,076	7,34±0,06
Glucosio (g/dl)	79,41±20,61	78,67±21,02	79,86±21,61
<i>Dati placentari</i>			
Peso placenta (g)	424,03±92,00	477,02±90,61**	455,01±91,01
Diametro maggiore (cm)	20,18±2,91	20,20±2,91	20±2,1
Diametro minore (cm)	16,74±2,24	16,80±1,70	17,1±1,4
Area (cm ²)	268,40±68,40	276,00±54,11	268,01±40,00
Spessore (cm)	1,64±0,39	1,81±0,37*	1,71±0,21
Ratio F/P	8,01±1,43	7,32±1,26**	7,94±1,29

Caratteristiche materne, fetali e placentari in presenza di feto maschile vs femminile nel gruppo di donne normopeso, sovrappeso ed obese rispettivamente (tab 3 a-b-c)

Nel gruppo *normopeso* (tab 3a), i feti di sesso maschile presentavano pesi (3391,00 gr±385,01 vs 3289,00 gr±379,02 p<0,01), lunghezza (50,20 cm±1,85 vs 49,40 cm±1,77 p<0,01) e CC (34,39 cm±1,21 vs 33,69 cm±2,50 p<0,01) significativamente maggiori rispetto ai feti di femmine, in accordo con la letteratura (54, 58). Anche le placentate presentavano peso maggiore (442,00 gr±91,00 vs 424,18 gr±92,30 p<0,05), ma non vi erano differenze per quanto concerne area, superficie ed efficienza placentare.

Tab 3a	NORMOPESO MASCHI (n=284)	NORMOPESO FEMMINE (n=250)
		<i>*p<0.05 **p<0.01 vs normopeso maschi</i>
<i>Dati materni</i>	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>
Epoca gestazionale (sett)	39,60±0,95	39,61±0,97
Età materna (anni)	31,50±5,60	31,41±0,87
Altezza materna (m)	1,64±0,06	1,64±0,06
BMI (kg/m ²)	21,41±1,75	21,56±1,91
Incremento ponderale (kg)	13,30 ±4,21	13,81±4,70
Hb (g/dl)	11,50±1,21	11,41±1,20
Ht (%)	34,40±3,20	34,21±3,41
glicemia (g/dl)	78,20±8,30	79,90±12,70
<i>Dati fetali</i>		
Peso fetale (g)	3391,00±385,01	3289,00±379,02**
Lunghezza fetale (cm)	50,20±1,85	49,40±1,77**
Indice ponderale (g/cm ³)	2,67±0,22	2,73±0,24**
Circonf cranica (cm)	34,39±1,21	33,69±2,50**
<i>Emogas arteria ombelicale</i>		
pO ₂ (mmHg)	19,41±10,97	18,36±8,15
pCO ₂ (mmHg)	47,18±11,34	47,62±10,17
pH	7,31±0,09	7,32±0,08
Glucosio (g/dl)	81,40±22,56	79,40±20,60
<i>Dati placentari</i>		
Peso placenta (g)	442,00±91,00	424,18±92,30*
Diametro maggiore (cm)	20,60±2,60	20,18±2,91
Diametro minore (cm)	16,91±2,21	16,74±2,24
Area (cm ²)	276,00±61,50	268,40±68,40
Spessore (cm)	1,64±0,34	1,64±0,39
Ratio F/P	7,90±1,40	8,00±1,40

Nel gruppo *sovrappeso* (tab 3b), i feti femmine presentavano CC inferiore rispetto ai maschi.

Presentavano inoltre un trend di aumento di peso (ns) e spessore (ns) placentare, con riduzione significativa solo dell'efficienza placentare ($7,30\pm 1,26$ vs $7,90\pm 1,20$ $p<0,01$).

Inoltre, i livelli di Hb materna erano significativamente inferiori nel sottogruppo di feti femmine ($11,00$ gr/dl $\pm 1,21$ vs $11,60$ gr/dl $\pm 1,10$ $p<0,01$).

Tab 3b	SOVRAPPESO MASCHI (n=59)	SOVRAPPESO FEMMINE (n=56)
		* $p<0.05$ ** $p<0.01$ vs sovrappeso maschi
<i>Dati materni</i>	<i>medie\pmDS</i>	<i>medie\pmDS</i>
Epoca gestazionale (sett)	39,60 \pm 0,92	39,70 \pm 1,12
Età materna (anni)	31,90 \pm 6,90	30,41 \pm 5,62
Altezza materna (m)	1,63 \pm 0,08	1,60 \pm 0,07
BMI (kg/m ²)	26,60 \pm 1,20	26,90 \pm 1,60
Incremento ponderale (kg)	13,17 \pm 5,80	12,51 \pm 6,02
Hb (g/dl)	11,60 \pm 1,10	11,00 \pm 1,21**
Ht (%)	34,71 \pm 3,22	33,50 \pm 3,50
glicemia (g/dl)	80,81 \pm 16,32	80,50 \pm 10,91
<i>Dati fetali</i>		
Peso fetale (g)	3473,00 \pm 434,01	3396,21 \pm 341,03
Lunghezza fetale (cm)	50,40 \pm 1,70	50,11 \pm 1,92
Indice ponderale (g/cm ³)	2,70 \pm 0,25	2,70 \pm 0,23
Circonf cranica (cm)	34,90 \pm 1,20	34,21 \pm 1,27**
<i>Emogas arteria ombelicale</i>		
pO ₂ (mmHg)	16,93 \pm 7,25	20,36 \pm 9,20*
pCO ₂ (mmHg)	48,37 \pm 9,51	45,83 \pm 8,91
pH	7,30 \pm 0,07	7,33 \pm 0,08
Glucosio (g/dl)	75,09 \pm 24,89	78,67 \pm 21,02
<i>Dati placentari</i>		
Peso placenta (g)	447,00 \pm 94,71	477,00 \pm 90,6
Diametro maggiore (cm)	20,70 \pm 2,60	20,23 \pm 2,92
Diametro minore (cm)	16,70 \pm 2,11	16,80 \pm 1,72
Area (cm ²)	273,04 \pm 56,04	276,03 \pm 54,06
Spessore (cm)	1,68 \pm 0,38	1,80 \pm 0,37
Ratio F/P	7,90 \pm 1,20	7,30 \pm 1,26**

Nel gruppo *obese* (tab 3c), pur non raggiungendo livelli di significatività, i feti di sesso femminile presentavano pesi maggiori; le placente risultavano più pesanti, più spesse e meno efficienti, mostrando trend opposto rispetto alla popolazione normopeso.

Tab 3c	OBESE MASCHI (n=25)	OBESE FEMMINE (n=23)
		* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ <i>vs obese maschi</i>
<i>Dati materni</i>	<i>medie±DS</i>	<i>medie±DS</i>
Epoca gestazionale (sett)	40,03±1,21	39,70±0,97
Età materna (anni)	31,6±5,8,	30,74±4,9,
Altezza materna (m)	1,61±0,06	1,62±0,06
BMI (kg/m ²)	33,70±4,31	35,70±5,70
Incremento ponderale (kg)	9,31±6,31	7,35±8,50
Hb (g/dl)	11,01±1,21	11,00±1.21
Ht (%)	33,20±3,21	33,10±3,12
glicemia (g/dl)	76,60±6,90	81,81±11,60
<i>Dati fetali</i>		
Peso fetale (g)	3441,02±502,21	3516,02±352,12
Lunghezza fetale (cm)	50,10±2,26	50,21±1,70
Indice ponderale (g/cm ³)	2,73±0,26	2,78±0,17
Circonf cranica (cm)	34,92±1,40	34,35±1,20
<i>Emogas arteria ombelicale</i>		
pO ₂ (mmHg)	16,58±6,81	22,78±11,28
pCO ₂ (mmHg)	49,29±11,34	43,09±10,57
pH	7,32±0,09	7,34±0,06
Glucosio (g/dl)	76,14±21,09	79,86±21,61
<i>Dati placentari</i>		
Peso placenta (g)	430,75±74,71	455,00±91,25
Diametro maggiore (cm)	21,00±2,41	20,00±2,11
Diametro minore (cm)	16,41±1,81	17,11±1,41
Area (cm ²)	272,11±47,21	268,02±40,11
Spessore (cm)	1,60±0,310	1,70±0,20
Ratio F/P	8,10±1,20	7,90±1,31

DISCUSSIONE

Lo scopo dello studio è stato, inizialmente, quello di valutare le caratteristiche materne, fetali e placentari in una popolazione selezionata di donne normopeso, sovrappeso ed obese con outcomes ostetrici e neonatali favorevoli.

Sono state infatti escluse dallo studio le gravidanze con diabete gestazionale (GDM), complicanze ipertensive e/o ritardo di crescita intrauterino (IUGR).

Per quanto concerne le caratteristiche materne, abbiamo dimostrato che l'aumento di peso in gravidanza era significativamente inferiore nelle obese rispetto alle normopeso.

Considerando le raccomandazioni IOM (64), la nostra popolazione di obese presentava incrementi ponderali nei range raccomandati (4-9 Kg) mentre le donne sovrappeso eccedevano tali raccomandazioni (6-11 kg).

Questo dato mette in evidenza da un lato, di come la nostra popolazione di donne obese fosse ben seguita con adeguato counselling nutrizionale fin dal periodo periconcezionale e supplementazione di micronutrienti durante la gravidanza e d'altro lato sottolinea l'importanza di non sottovalutare la popolazione di donne sovrappeso, anch'esse gruppo vulnerabile e spesso soggetto ad un inadeguato balance di micro/macronutrienti,

Diversi studi in letteratura (65,66) mettono in evidenza l'associazione tra incremento ponderale in gravidanza, infiammazione ed esiti ostetrici avversi.

Inoltre, studi recenti hanno dimostrato un'associazione tra incremento ponderale tra le gravidanze e il rischio di preeclampsia, morte fetale, diabete, LGA e taglio cesareo (67-70).

L'incremento ponderale tra le gravidanze può contribuire a cambiamenti nel peso placentare alla seconda gravidanza e pertanto la placenta potrebbe rappresentare il nesso causale tra i cambiamenti nel BMI e specifiche complicanze ostetriche.

Wallace e collaboratori (71) hanno recentemente dimostrato che un incremento > 3 unità di BMI tra le gravidanze si associava ad un rischio aumentato di preeclampsia, ipertensione gestazionale, taglio cesareo urgente, LGA e placenti di dimensioni maggiori.

La relazione tra incremento ponderale e preeclampsia era evidente solo in donne in condizioni di sovrappeso alla prima gravidanza.

Le donne obese alla prima gravidanza presentavano inoltre maggior rischio di cambiamenti, in eccesso o difetto, del BMI tra le gravidanze successive rispetto alle donne con BMI nei range di normalità, esponendole pertanto a rischio maggiore di outcomes sfavorevoli.

Questi dati sottolineano l'importanza del periodo peri-preconcezionale per un adeguato counselling nutrizionale.

I livelli di Hb ed Ht materni sono risultati nella popolazione oggetto di studio, significativamente inferiori nelle obese rispetto al gruppo di donne normopeso.

Questo dato, interessante, può essere l'espressione di un inadeguato stato nutrizionale tipico delle donne obese o la conseguenza di un maggior volume di distribuzione a cui si associa l'emodiluizione tipica della gravidanza.

E' noto in letteratura che le donne over-nutrite sono spesso malnutrite con uno sbilanciamento di apporto di micro e macronutrienti con una predominanza di macronutrienti provenienti da fast foods, soft drinks e snaks rispetto ai micronutrienti e questo è stato associato ad outcomes neonatali sfavorevoli (71).

Bassi livelli di folato sono stati dimostrati in donne obese, con alterazioni nel trasporto placentare di questo micronutriente (72).

Inoltre, lo stato infiammatorio cronico di basso grado presente nelle donne obese si associa ad aumentati livelli di epcidina e PCR, ed è stato dimostrato che questo si correla negativamente con i livelli plasmatici di ferro dovuti ad ridotto assorbimento dello stesso a livello duodenale (73-75).

Dao e collaboratori (76) hanno riportato per la prima volta che l'infiammazione e i livelli di epcidina sono più elevati nelle donne obese in gravidanza.

Pertanto, è possibile che nella nostra popolazione di donne obese, i più alti livelli di epcidina possano giustificare livelli ematici materni inferiori di ferro e di conseguenza di Hb.

Lo stato infiammatorio intrauterino presente nelle donne obese può determinare uno stato patologico fetale compromettendo le funzioni ed il metabolismo placentare e determinare alterazioni dello sviluppo e crescita fetali (22, 39, 77).

Il ferro passa la barriera placentare per trasporto attivo, ed è stato dimostrato una sua alterazione in condizioni patologiche fetali come il ritardo di crescita intrauterino (78).

L'epcidina è conosciuta come uno dei regolatori dell'assorbimento di ferro anche a livello fetale (79) e pertanto una sua disregolazione può compromettere negativamente lo status marziale neonatale.

Purtroppo a tutt'oggi non esistono studi che valutino i livelli di ferro nel cordone ombelicale nel gruppo di donne obese.

La modalità del parto rimane a tutt'oggi una sfida per gli ostetrici (80).

Le donne obese, come è noto dalla letteratura, sono più a rischio di taglio cesareo e parto operativo vaginale (81), con un aumentato rischio di complicanze legate al parto operativo stesso. Come prevedibile, queste complicanze vengono esacerbate in presenza di complicanze materne come diabete, ipertensione e preeclampsia (82).

Un recente studio prospettico condotto su un gruppo di donne estremamente obese ($BMI > 40 \text{ Kg/m}^2$) non ha evidenziato una riduzione delle complicanze se il parto veniva espletato per via cesarea, se non una riduzione di rischio di distocia di spalla (83).

Pertanto questi dati non supportano una politica di programmazione routinaria di tagli cesarei come modalità del parto in queste pazienti.

Ricordiamo inoltre che il taglio cesareo, come intervento chirurgico maggiore, espone maggiormente a rischi tromboembolici nel post partum.

Nella popolazione oggetto di studio, non si sono evidenziate differenze tra i gruppi per quanto concerne la modalità del parto (vaginale taglio cesareo elettivo, taglio cesareo urgente, parto operativo vaginale) (dati non mostrati).

Tuttavia, è da sottolineare che la nostra popolazione è stata accuratamente selezionata e che le complicanze materne e/o fetali rappresentavano criteri di esclusione dallo studio; pertanto questo potrebbe giustificare i risultati ottenuti.

Nel nostro studio abbiamo dimostrato che i pesi fetali erano significativamente più elevati nel gruppo obese e sovrappeso rispetto alle normopeso e che i pesi placentari erano maggiori nelle sovrappeso mostrando tuttavia un trend in aumento anche nelle obese pur non raggiungendo la significatività.

Studi recenti (84, 51) hanno dimostrato che il peso della placenta incrementa di 3,6 gr per ogni aumento di unità del BMI, in accordo con i nostri risultati.

In modo interessante, nella nostra popolazione di donne sovrappeso, le placente risultavano inoltre avere spessore maggiore e riduzione dell'efficienza, espressa come riduzione del rapporto F/P, quando confrontate con le normopeso.

Purtroppo a tutt'oggi esistono pochi dati in letteratura sull'efficienza placentare nelle donne sovrappeso ed obese.

Wallace (51) ha riportato per la prima volta una riduzione dell'efficienza placentare nelle donne obese rispetto alle normopeso.

Il fatto che nella nostra popolazione l'efficienza placentare sia ridotta nelle sovrappeso ma non nelle obese potrebbe essere l'espressione di una popolazione clinicamente meglio seguita, con riduzione dell'incremento ponderale, dell'infiammazione e di conseguenza delle alterazioni placentari.

Poichè l'efficienza placentare esprime un rapporto tra peso fetale e placentare, essa potrebbe essere il risultato di alterazioni nel feto, nella placenta o in entrambi (41). Tuttavia, essendo l'ipertrofia placentare più comune nelle obese (50, 51), la ridotta efficienza placentare potrebbe essere la conseguenza di una maggiore crescita placentare.

Il trasporto placentare dei nutrienti è alterato nelle donne obese, supportando l'idea che le placente siano funzionalmente differenti rispetto alle normopeso, determinando un diverso apporto di nutrienti a livello fetale.

In studi condotti su modelli animali di babuini (31, 85), l'obesità materna si associa ad uno stato infiammatorio tale da determinare alterazioni strutturali e funzionali nella placenta espressi da una riduzione del trasporto placentare di aminoacidi, iperleptinemia materna e resistenza placentare alla leptina.

Ulteriori studi su animali suggeriscono che l'uptake placentare di acidi grassi è alterato in condizione di over nutrizione materna (86); tuttavia esistono pochi dati su placente umane.

Dube' e collaboratori (87) hanno dimostrato che alti valori di BMI materno si associano ad alterazioni nei trasportatori placentari degli acidi grassi, ad un aumento dell'attività della lipoprotein lipasi placentare e riduzione a livello del citotrofoblasto del trasporto dell'acido linoleico.

Queste modificazioni potrebbero potenzialmente modificare il metabolismo fetale e predisponendolo alla sindrome metabolica dell'adulto.

L'obesità materna è stata inoltre associata ad alterazioni nello sviluppo vascolare e del flusso uterino placentare nelle pecore (88). Non è stato tuttavia ancora dimostrato

se alterazioni analoghe siano presenti nelle placente umane ma disregolazione nei pathways infiammatori vascolari sono stati riportati (89).

Le alterazioni dello spessore ed efficienza placentare presenti nella nostra popolazione potrebbero essere l'espressione di un'alterazione nel trasporto placentare e dell'uptake fetale di nutrienti, suggerendo analisi future per correlare queste alterazioni morfologiche con alterazioni placentari dell'espressione di geni e dell'attività di proteine coinvolte negli scambi placentari in donne sovrappeso ed obese senza diabete.

Analizzando i dati in relazione al genere fetale, abbiamo dimostrato un differente adattamento placentare e fetale all'ambiente intrauterino delle donne sovrappeso ed obese rispetto alle normopeso.

Considerando i feti di sesso femminile (tab 2b), nel gruppo di donne sovrappeso ed obese sono presenti le medesime alterazioni nei parametri materni, fetali e placentari riscontrate nella popolazione generale oggetto di studio (tab 1).

In particolare, quando in relazione al sesso, i livelli di Hb erano significativamente inferiori nelle sovrappeso e non nelle obese rispetto ai controlli; i pesi fetali sono risultati significativamente maggiori sia nelle obese che nelle sovrappeso rispetto ai controlli ma le placente si presentavano più pesanti, spesse e meno efficienti solo nelle sovrappeso rispetto alle normopeso.

Al contrario, considerando i feti di sesso maschile (tab 2a), non si sono evidenziate differenze nei parametri precedentemente considerati nei tre gruppi di studio.

Questi dati, estremamente interessanti, suggeriscono la possibile esistenza di diversi meccanismi sesso-dipendenti di adattamento allo stato infiammatorio cronico di basso grado tipico delle donne obese e sovrappeso; d'altro lato, il dato che alterazioni (Hb, caratteristiche placentari) siano presenti solo nelle sovrappeso-femmine vs normopeso-femmine avvalorava ancor più l'ipotesi che il livello di malnutrizione ed infiammazione siano maggiormente presenti in questo sottogruppo di donne con incremento ponderale sopra i range raccomandati.

Com'è noto, l'epcidina gioca un ruolo chiave nell'omeostasi del ferro e livelli elevati sono presenti in condizione di infiammazione ed obesità (76). Concentrazioni differenti di epcidina sono presenti a livello epatico ed ematico nei maschi e nelle femmine ed un recente studio *in vivo* ed *in vitro* condotto nei topi ovariectomizzati (90) dimostra che gli estrogeni sono in grado di aumentare l'espressione di epcidina a

livello epatico (91). Si può pertanto speculare che i feti di sesso femminile, possano modulare il livelli di epcidina materni attraverso meccanismi estrogeni-dipendenti ancora sconosciuti.

Dati analoghi emergono considerando i diversi adattamenti, genere correlati, materno-fetali e placentari nel gruppo normopeso, sovrappeso ed obeso (tab 3a-3b-3c) rispettivamente.

In particolare, nel gruppo normopeso (3a) i feti femmine risultavano avere pesi e placente più piccole rispetto ai maschi in accordo con la letteratura (54-56, 92) senza alterazioni nell'efficienza e spessore placentare.

Al contrario, il rapporto si inverte nel gruppo di obese (tab 3c) per quanto concerne il peso fetale (pur non raggiungendo la significatività) e nel gruppo di obese e sovrappeso (tab 3b-3c) per quanto concerne il peso placentare. Inoltre in presenza di feto femminile, sia nel gruppo sovrappeso che obese le placente risultavano di spessore maggiore ed efficienza minore rispetto ai maschi, pur raggiungendo la significatività soltanto nel gruppo sovrappeso-femmine (tab 3b, $p < 0,01$).

Negli ultimi anni diversi studi hanno suggerito l'ipotesi che i feti di sesso maschile e femminile istituiscano differenti strategie di adattamento in risposta a medesimi ambienti materni sfavorevoli, come conseguenza di differente regolazione ed espressione di geni placentari, proteine e pathways ormonali (steroidi) (60, 63).

Sebbene i dimorfismi sessuali correlino con differenze ormonali nei mammiferi, gli ormoni di per se' non sono responsabili di tutte le differenze (57).

Differenze legate al sesso originano precocemente nello sviluppo fetale, già dallo stadio di blastocisti (93) e l'ineguale espressione di geni X-linked gioca un ruolo chiave già prima dell'impianto e dello sviluppo della gonade e dell'asse surrenalico fetale.

E' stato dimostrato che circa il 30% dei geni espressi a livello del trofoblasto sono presenti sul cromosoma X (94) e che i geni X e Y-linked possano modulare l'espressione di diversi altri geni presenti sugli autosomi (95).

Nelle placente di topo, in condizioni di dieta controllata (CD), la metilazione globale del DNA risultava alterata in modo sesso dipendente con livelli inferiori in presenza di feto maschile (96); al contrario in condizioni di dieta ricca di grassi (HFD) l'ipometilazione era presente solo nei feti di sesso femminile. Tuttavia, le differenze non erano solo quantitative ma anche qualitative con coinvolgimento di geni del

sistema immunitario e responsabili del trasporto degli aminoacidi nelle femmine e di geni coinvolti nello sviluppo vascolare e responsabili del trasporto degli acidi grassi e del glucosio nei maschi.

Cvitic e collaboratori (97) sono stati i primi ad analizzare l'espressione globale dei geni attraverso l'analisi di microarray in colture cellulari purificate di quattro fenotipi cellulari presenti nella placenta umana (cito e sinciziotrofoblasto, endotelio arterioso e venoso). E' stato dimostrato che esiste una differenza sesso-dipendente di espressione genica a livello dei quattro diversi tipi cellulari; che tutti e quattro i tipi cellulari variano nell'estensione dell'espressione genica; che i geni espressi in presenza di feto maschile prevalgono a livello del compartimento epiteliale (cito e sinciziotrofoblasto); e che i geni espressi in entrambi i compartimenti si associano a funzioni biologiche e pathways molecolari differenti, essendo il compartimento trofoblastico più ricco in geni coinvolti nel sistema immunitario, nell'infiammazione e nel graft-versus-host disease. Questo potrebbe giustificare la maggior vulnerabilità dei feti maschi al parto pretermine e rottura precoce delle membrane (98) e render conto del maggior infiltrato infiammatorio presente a livello placentare.

Pertanto, l'esposizione a "stressor" ambientali durante fasi critiche dello sviluppo embrionario e/o fetale può determinare cambiamenti a livello dei geni (epigenetica) coinvolti nella divisione cellulare, sviluppo fetale e placentare e compromettere la capacità di adattamento a successivi ambienti sfavorevoli come nell'obesità, in modo sesso-dipendente (95)

Studi che analizzano le diverse risposte sesso dipendenti all'asma materna (60), preeclampsia lieve (99, 100) e parto pretermine (99) indicano che l'approccio "maschile" è "minimalista" con minime alterazioni placentari di espressione genica e proteica; ciò consente loro di crescere normalmente anche in presenza di ambiente sfavorevole. Tuttavia, in presenza di un ulteriore insulto (esacerbazione acuta d'asma) i feti di sesso maschile mostrano maggior rischio di IUGR, parto pretermine e morte in utero. Al contrario, le placente di feti femmine si adattano velocemente ad ambienti intrauterini sfavorevoli con diverse alterazioni nell'espressione di geni e proteine determinando una riduzione del pattern di crescita fetale pur non comportando il ritardo di accrescimento intrauterino ($> 10^{\circ}$ pct). Questo approccio consentirebbe loro di sopravvivere ad un ulteriore insulto che comporti un'alterazione nello scambio di nutrienti e ossigeno a livello fetale, con un rischio inferiore di eventi avversi.

Ulteriori lavori dimostrano che i neonati di sesso maschile in condizioni di severa prematurità (101) presentavano maggior vasodilatazione del distretto periferico microvascolare con più bassi valori pressori sistemici, patologie più severe e un maggior rischio di morte neonatale nelle prime 72 ore di vita. Al contrario i neonati di sesso femminile, si adattavano più velocemente alla vita extrauterina in condizioni di estrema prematurità probabilmente come conseguenza di un precoce adattamento in utero ad un ambiente sfavorevole.

Differenze sesso-correlate sulle funzioni immunitarie della placenta cominciano ad emergere dalla letteratura. L'espressione di citokine infiammatorie come TNF- α , IL1b, IL 6 sono risultate aumentate in placente "femmine" di gravidanze complicate da asma. (102).

Al contrario, in studi condotti su placente pretermine (103) è presente una percentuale maggiore di infiltrato macrofagico e di espressione di TLR4 e TNF- α in presenza di feto maschile. Queste differenze potrebbero giustificare l'aumentata percentuale di parto pretermine nei feti maschi.

Esistono inoltre differenze di genere nelle funzioni placentari ormono-dipendenti. Sempre negli studi condotti sull'asma in gravidanza (60), alti livelli di 11 β OH-steroidodeidrogenasi (11 β HSD2) placentari si associavano a riduzione della crescita fetale, riduzione del cortisolo placentare e soppressione dell'asse ipotalamo-ipofisipurrenalico solo nei feti di sesso femminile. Questi adattamenti rappresenterebbero un meccanismo di sopravvivenza atti a preservare le funzioni endocrine e metaboliche fetali.

IGF1 e IGF2 vengono espressi a livello placentare e sono necessari per una corretta crescita dell'unità feto-placenta. Tuttavia, i meccanismi alla base di un diverso pattern di crescita presente nei feti maschi e femmine è ancora sconosciuto ma è probabile che siano coinvolti gli insulin-like growth factors (IGFs). E' stato dimostrato che i livelli di IGF1 e di IGFBP3 erano più elevati in presenza di feto femminile e che al contrario i livelli di ormoni della crescita erano più elevati nei maschi (104). Inoltre i livelli di IGF1 erano più elevati in presenza di asma lieve e feto di sesso maschile e ridotti in presenza di asma lieve, feto di sesso femminile e uso di sigarette (105), sottolineando una regolazione sesso dipendente della crescita fetale di IGF in risposta ad ambienti intrauterini sfavorevoli.

La popolazione oggetto di studio è stata accuratamente selezionata e gli esiti ostetrici e neonatali avversi esclusi. Pertanto, l'ambiente intrauterino di una donna sovrappeso

od obesa può essere assimilato ad uno stato infiammatorio cronico di basso grado analogamente all'asma materna.

In accordo con le “strategie” sesso dipendenti presenti in condizioni patologiche lievi precedentemente menzionate (60, 61, 99), in risposta allo stato infiammatorio cronico di basso grado presente nella nostra popolazione, i feti femmine determinano cambiamenti strutturali placentari (aumento dello spessore e riduzione dell'efficienza) che si associano a cambiamenti nel peso fetale (maggiore rispetto ai maschi). Si può speculare pertanto che questo rappresenti una strategia che consenta loro di avere nell'immediato comunque degli outcomes favorevoli e di sopravvivere in presenza di un eventuale ulteriore futuro insulto.

Purtroppo a tutt'oggi non esistono studi che valutino se e quali alterazioni geniche e proteiche siano presenti nelle placente di feti femmine e maschi in condizioni di sovrappeso ed obesità. Questo suggerisce la necessità di ulteriori futuri studi.

CONCLUSIONI

I risultati dello studio, in accordo con i dati emergenti negli ultimi anni dalla letteratura, dimostrano che influenze ambientali (dieta, obesità) possono determinare cambiamenti sesso-dipendenti già nelle fasi precoci dello sviluppo sia a livello fetale che placentare, determinando alterazioni epigenetiche che predispongono il feto alla sindrome metabolica dell'adulto. Tuttavia, il momento in cui si verificano le differenze sesso-correlate a livello placentare e come esse contribuiscano ai diversi adattamenti fetali *in utero* sono ancora in gran parte sconosciuti.

Il sesso dell'embrione determina le dimensioni fetali e placentari e la capacità della placenta di rispondere a diversi “stressors”; pertanto la placenta può rappresentare un modello ideale per studiare la diversa risposta fetale a modificazioni della dieta, stile di vita, alterazioni endocrine.

Pertanto, alla luce di questi risultati, non è più plausibile condurre protocolli di studio senza tenere in considerazione il sesso fetale. Quando possibile, i risultati dovranno essere interpretati in relazione al sesso allo scopo di produrre evidenze scientifiche per interventi e raccomandazioni, ad esempio dietetiche, sesso “personalizzate” .

BIBLIOGRAFIA

1. Heslehurst N, Ells LJ, Simpson H, Batterham A, Wilkinson J, Summerbell CD. Trends in maternal obesity incidence rates, demographic predictors, and health inequalities in 36,821 women over a 15-year period. *BJOG*. 2007 Feb;114(2):187-94.
2. Heslehurst N, Rankin J, Wilkinson JR, Summerbell CD. *Int J Obes (Lond)*. A nationally representative study of maternal obesity in England, UK: trends in incidence and demographic inequalities in 619 323 births, 1989-2007. 2010 Mar;34(3):420-8. doi: 10.1038/ijo.2009.250. Epub 2009 Dec 22.
3. Berghöfer A, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN. *BMC Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. Public Health*. 2008 Jun 5;8:200. doi: 10.1186/1471-2458-8-200.
4. Addo VN. Body Mass Index, Weight Gain during Pregnancy and Obstetric Outcomes. *Ghana Med J*. 2010 Jun;44(2):64-9.
5. Athukorala C, Rumbold AR, Willson KJ, Crowther CA. The risk of adverse pregnancy outcomes in women who are overweight or obese. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2010 Sep 17;10:56. doi: 10.1186/1471-2393-10-56.
6. Kabiru W, Raynor BD. Obstetric outcomes associated with increase in BMI category during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 Sep;191(3):928-32.
7. Ramachenderan J, Bradford J, McLean M. *Aust N Z J Maternal obesity and pregnancy complications: a review. Obstet Gynaecol*. 2008 Jun;48(3):228-35. doi: 10.1111/j.1479-828X.2008.00860.x.
8. Cetin I, Alvino G, Cardellicchio M. Long chain fatty acids and dietary fats in fetal nutrition. *J Physiol*. 2009 Jul 15;587(Pt 14):3441-51. doi: 10.1113/jphysiol.2009.173062. Epub 2009 Jun 15.
9. Shekhawat PS, Garland JS, Shivpuri C, Mick GJ, Sasidharan P, Pelz CJ, McCormick KL. Neonatal cord blood leptin: its relationship to birth weight, body mass index, maternal diabetes, and steroids. *Pediatr Res*. 1998 Mar;43(3):338-43.
10. King JC. Maternal obesity, metabolism and pregnancy outcomes. *Ann Rev Nutr* 2006; 26: 271–291.
11. Walsh SW. Obesity: a risk factor for preeclampsia. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18(10): 365–370.
12. Ramsay JE, Ferrell WR, Crawford L, Wallace AM, Greer IA, Sattar N. Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic, vascular, and inflammatory pathways. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Sep;87(9):4231-7.

13. Madan JC, Damman O, Allan W, Quinn R, Davis J. Maternal obesity and markers of inflammation and pregnancy. *Cytokine* 2009; 47(1): 61–64. *Metab* 2003; 88(8): 3507–3512. 14.
14. Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker JL, Roberts J, Thadhani R. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. *Obstet Gynecol* 2001; 98(1): 757–762.
15. Cnattingius S, Bergström R, Lipworth L, Kramer MS. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 1998; 338(3): 147–152.
16. Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A. Pentraxins at the Crossroads between Innate Immunity, Inflammation, Matrix Deposition, and Female Fertility. *Annu Rev Immunol* 2005;23:337-366.
17. Osorio-Conles O, Guitart M, Chacón MR, Maymo-Masip E, Moreno-Navarrete JM, Montori-Grau M, Näf S, Fernandez-Real JM, Vendrell J, Gómez-Foix AM. Plasma PTX3 protein levels inversely correlate with insulin secretion and obesity, whereas visceral adipose tissue PTX3 gene expression is increased in obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011 Dec;301(6):E1254-61. Epub 2011 Sep 6.
18. Zanetti M, Bosutti A, Ferreira C, Vinci P, Biolo G, Fonda M, Valente M, Cattin L, Guarnieri G, Barazzoni R. Circulating pentraxin 3 levels are higher in metabolic syndrome with subclinical atherosclerosis: evidence for association with atherogenic lipid profile. *Clin Exp Med* 2009; 9: 243-248
19. Cetin I, Cozzi V, Pasquini F, Nebuloni M, Garlanda C, Vago L et al. Elevated maternal levels of the long pentraxin 3 (PTX3) in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194: 1347-53.
20. Rovere-Querini P, Antonacci S, Dell'Antonio G, Angeli A, Almirante G, Dal Cin E et al. Plasma and tissue expression of the long pentraxin 3 during normal pregnancy and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2006;108; 148-155.
21. Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Holt PG, Calder PC, Taylor AL, Prescott SL. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on maternal and fetal erythrocyte fatty acid composition. *Eur J Clin Nutr*. 2004 Mar;58(3):429-37.
22. Zhu MJ, Du M, Nathanielsz PW, Ford SP. Placenta. Maternal obesity up-regulates inflammatory signaling pathways and enhances cytokine expression in the mid-gestation sheep placenta. 2010 May;31(5):387-91. Doi: 10.1016/j.placenta.2010.02.002. Epub 2010 Feb 24.

23. Gauster M, Hiden U, van Poppel M, Frank S, Wadsack C, Hauguel-de Mouzon S, Desoye G. Dysregulation of placental endothelial lipase in obese women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes*. 2011 Oct;60(10):2457-64. doi: 10.2337/db10-1434. Epub 2011 Aug 18.
24. Lager S, Jansson N, Olsson AL, et al. Effect of IL-6 and TNF- α on fatty acid uptake in cultured human primary trophoblast cells. *Placenta*. 2011; 32, 121–127.
25. Denison FC, Roberts KA, Barr SM, Norman JE. Obesity, pregnancy, inflammation, and vascular function. *Reproduction*. 2010 Sep;140(3):373-85. doi: 10.1530/REP-10-0074. Epub 2010 Mar 9.
26. Lumeng CN, Bodzin JL & Saltiel AR 2007 Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation* 117 175–184.
27. Jones HN, Jansson T & Powell TL 2009 IL-6 stimulates system A amino acid transporter activity in trophoblast cells through STAT3 and increased expression of SNAT2. *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 297 C1228–C1235.
28. Swanson LD, Bewtra C. Increase in normal placental weights related to increase in maternal body mass index. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2008 Feb;21(2):111-3. Doi: 10.1080/14767050701866963.
29. Madazli R, Tuten A, Calay Z, Uzun H, Uludag S, Ocak V. The incidence of placental abnormalities, maternal and cord plasma malondialdehyde and vascular endothelial growth factor levels in women with gestational diabetes mellitus and nondiabetic controls. *Gynecol Obstet Invest*. 2008;65(4):227-32. doi: 10.1159/000113045. Epub 2008 Jan 14.
30. Challier JC, Basu S, Bintein T, Minium J, Hotmire K, Catalano PM, Hauguel-de Mouzon S. Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. *Placenta*. 2008 Mar;29(3):274-81. doi: 10.1016/j.placenta.2007.12.010. Epub 2008 Feb 11.
31. Farley D, Tejero ME, Comuzzie AG, Higgins PB, Cox L, Werner SL, Jenkins SL, Li C, Choi J, Dick EJ Jr, Hubbard GB, Frost P, Dudley DJ, Ballesteros B, Wu G, Nathanielsz PW, Schlabritz-Loutsevitch NE. Feto-placental adaptations to maternal obesity in the baboon. *Placenta*. 2009 Sep;30(9):752-60. doi: 10.1016/j.placenta.2009.06.007. Epub 2009 Jul 25.

32. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003 Dec;112(12):1796-808.
33. Varastehpour A, Radaelli T, Minium J, Ortega H, Herrera E, Catalano P, Hauguel-de Mouzon S. Activation of phospholipase A2 is associated with generation of placental lipid signals and fetal obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Jan;91(1):248-55. Epub 2005 Oct 25.
34. Islami D, Bischof P & Chardonens D 2003 Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG. *Molecular Human Reproduction* 9 395–398.
35. Perez-Perez A, Maymo J, Gambino Y, Duenas JL, Goberna R, Varone C & Sanchez-Margalet V 2009 Leptin stimulates protein synthesis-activating translation machinery in human trophoblastic cells. *Biology of Reproduction* 81 826–832.
36. Fietta P 2005 Focus on leptin, a pleiotropic hormone. *Minerva Medica* 96 65–75.
37. Cetin I, Morpurgo PS, Radelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Bellotti M et al. Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatr Res* 2000; 48: 646-651.
38. Barker DJP. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci* 1998; 95: 115-128.
39. Schaeffler A, Gross P, Buettner R, Bollheimer C, Buechler C, Neumeier M, Kopp A, Schoelmerich J, Falk W. Immunology. Fatty acid-induced induction of Toll-like receptor-4/nuclear factor-kappaB pathway in adipocytes links nutritional signalling with innate immunity. 2009 Feb;126(2):233-45. doi: 10.1111/j.1365-2567.2008.02892.x. Epub 2008 Jun 23.
40. Shah TJ, Leik CE, Walsh SW. Neutrophil infiltration and systemic vascular inflammation in obese women. *Reprod Sci*. 2010 Feb;17(2):116-24. doi: 10.1177/1933719109348252. Epub 2009 Oct 9.
41. Fowden AL, Sferruzzi-Perri AN, Coan PM, Constancia M, Burton GJ. Placental efficiency and adaptation: endocrine regulation. *J Physiol*. 2009 Jul 15;587(Pt 14):3459-72. doi: 10.1113/jphysiol.2009.173013. Epub 2009 May 18.
42. Barker DJ, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. *BMJ*. 1990 Aug 4;301(6746):259-62.

43. Eriksson J, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D. Fetal and childhood growth and hypertension in adult life. *Hypertension*. 2000 Nov;36(5):790-4.
44. Barker DJ, Thornburg KL, Osmond C, Kajantie E, Eriksson JG. The surface area of the placenta and hypertension in the offspring in later life. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):525-30. doi: 10.1387/ijdb.082760db.
45. Kajantie E, Thornburg KL, Eriksson JG, Osmond C, Barker DJ. In preeclampsia, the placenta grows slowly along its minor axis. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):469-73. doi: 10.1387/ijdb.082833ek.
46. Brenner BM, Chertow GM. Congenital oligonephropathy: an inborn cause of adult hypertension and progressive renal injury? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1993 Sep;2(5):691-5.
47. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001 Jan 6;357(9249):53-6.
48. Jansson T, Powell TL. Role of the placenta in fetal programming: underlying mechanisms and potential interventional approaches. *Clin Sci (Lond)*. 2007 Jul;113(1):1-13.
49. Barker DJ, Osmond C, Thornburg KL, Kajantie E, Eriksson JG. The lifespan of men and the shape of their placental surface at birth. *Placenta*. 2011 Oct;32(10):783-7. doi: 10.1016/j.placenta.2011.07.031. Epub 2011 Aug 9.
50. Baptiste-Roberts K, Salafia CM, Nicholson WK, Duggan A, Wang NY, Brancati FL. Maternal risk factors for abnormal placental growth: the national collaborative perinatal project. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2008 Sep 23;8:44. doi: 10.1186/1471-2393-8-44.
51. Wallace JM, Horgan GW, Bhattacharya S. Placental weight and efficiency in relation to maternal body mass index and the risk of pregnancy complications in women delivering singleton babies. *Placenta*. 2012 Aug;33(8):611-8. doi: 10.1016/j.placenta.2012.05.006. Epub 2012 Jun 12.
52. Steen EE, Källén K, Maršál K, Norman M, Hellström-Westas L. Impact of sex on perinatal mortality and morbidity in twins. *J Perinat Med*. 2013 Nov 12:1-7. doi: 10.1515/jpm-2013-0147.

53. Melamed N, Yogev Y, Glezerman M. Fetal gender and pregnancy outcome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 Apr;23(4):338-44. Doi: 10.3109/14767050903300969.
54. Wallace JM, Bhattacharya S, Horgan GW. Gestational age, gender and parity specific centile charts for placental weight for singleton deliveries in Aberdeen, UK. *Placenta.* 2013 Mar;34(3):269-74. doi: 10.1016/j.placenta.2012.12.007. Epub 2013 Jan 16.
55. Thompson DK, Warfield SK, Carlin JB, Pavlovic M, Wang HX, Bear M, Kean MJ, Doyle LW, Egan GF, Inder TE. Perinatal risk factors altering regional brain structure in the preterm infant. *Brain.* 2007 Mar;130(Pt 3):667-77. Epub 2006 Sep 28.
56. Almog B, Shehata F, Aljabri S, Levin I, Shalom-Paz E, Shrim A. Placenta weight percentile curves for singleton and twins deliveries. *Placenta.* 2011 Jan;32(1):58-62. doi: 10.1016/j.placenta.2010.10.008. Epub 2010 Oct 30.
57. Bermejo-Alvarez P, Rizos D, Rath D, Lonergan P, Gutierrez-Adan A. Sex determines the expression level of one third of the actively expressed genes in bovine blastocysts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Feb 23;107(8):3394-9. doi: 10.1073/pnas.0913843107. Epub 2010 Feb 4.
58. Eriksson JG, Kajantie E, Osmond C, Thornburg K, Barker DJ. Boys live dangerously in the womb. *Am J Hum Biol.* 2010 May-Jun;22(3):330-5. doi: 10.1002/ajhb.20995.
59. Gabory A, Roseboom TJ, Moore T, Moore LG, Junien C. Placental contribution to the origins of sexual dimorphism in health and diseases: sex chromosomes and epigenetics. *Biol Sex Differ.* 2013 Mar 21;4(1):5. doi: 10.1186/2042-6410-4-5.
60. Clifton VL. Review: Sex and the human placenta: mediating differential strategies of fetal growth and survival. *Placenta.* 2010 Mar;31 Suppl:S33-9. doi: 10.1016/j.placenta.2009.11.010. Epub 2009 Dec 11.
61. Challis J, Newnham J, Petraglia F, Yeganegi M, Bocking A. Fetal sex and preterm birth. *Placenta.* 2013 Feb;34(2):95-9. doi: 10.1016/j.placenta.2012.11.007. Epub 2012 Dec 20.

62. Agarwal MM, Dhath GS, Shah SM Gestational diabetes mellitus: simplifying the international association of diabetes and pregnancy diagnostic algorithm using fasting plasma glucose. *Diabetes Care*. 2010 Sep;33(9):2018-20. Epub 2010 Jun 2.
63. Misra DP, Salafia CM, Miller RK, Charles AK. Non-linear and gender-specific relationships among placental growth measures and the fetoplacental weight ratio. *Placenta*. 2009 Dec;30(12):1052-7. doi: 10.1016/j.placenta.2009.09.008. Epub 2009 Oct 29.
64. Rasmussen KM, Yaktine AL, editors. *Weight Gain During Pregnancy. Reexamining the Guidelines*. Institute of Medicine (US) and National Research Council (US) Committee to Reexamine IOM Pregnancy Weight Guidelines; Washington (DC): National Academies Press (US); 2009.
65. Chung JG, Taylor RS, Thompson JM, Anderson NH, Dekker GA, Kenny LC, McCowan LM; SCOPE Consortium. Gestational weight gain and adverse pregnancy outcomes in a nulliparous cohort. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013 Apr;167(2):149-53. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.11.020. Epub 2012 Dec 23.
66. Jain NJ, Denk CE, Kruse LK, Dandolu V. Maternal obesity: can pregnancy weight gain modify risk of selected adverse pregnancy outcomes? *Am J Perinatol*. 2007 May;24(5):291-8. Epub 2007 May 18.
67. Villamor E, Cnattingius S: Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet* 2006, 368:1164–1170.
68. Whiteman VE, Aliyu MH, August EM, McIntosh C, Duan J, Alio AP, Salihu HM: Changes in prepregnancy body mass index between pregnancies and risk of gestational and type 2 diabetes. *Arch Gynecol Obstet* 2011, 284:235–240.
69. Whiteman VE, Crisan L, McIntosh C, Alio AP, Duan J, Marty PJ, Salihu HM: Interpregnancy body mass index changes and risk of stillbirth. *Gynecol Obstet Invest* 2011, 72:192–195.
70. Whiteman VE, McIntosh C, Rao K, Mbah AK, Salihu HM: Interpregnancy BMI change and risk of primary caesarean delivery. *J Obstet Gynaecol* 2011, 31:589–593.
71. Wallace JM, Bhattacharya S, Campbell DM, Horgan GWBMC Pregnancy Childbirth. Inter-pregnancy weight change impacts placental weight and is associated with the risk of adverse pregnancy outcomes in the second pregnancy. 2014 Jan 22;14(1):40. doi: 10.1186/1471-2393-14-40.

72. Kim H, Hwang JY, Kim KN, Ha EH, Park H, Ha M, Lee KY, Hong YC, Tamura T, Chang N. Relationship between body-mass index and serum folate concentrations in pregnant women. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Jan;66(1):136-8. doi: 10.1038/ejcn.2011.160. Epub 2011 Sep 21.
71. Sun B, Purcell RH, Terrillion CE, Yan J, Moran TH, Tamashiro KL. Maternal high-fat diet during gestation or suckling differentially affects offspring leptin sensitivity and obesity. *Diabetes.* 2012 Nov;61(11):2833-41. doi: 10.2337/db11-0957. Epub 2012 Jun 29.
73. Tussing-Humphreys LM, Nemeth E, Fantuzzi G, Freels S, Guzman G, Holterman AX, Braunschweig C. Elevated systemic hepcidin and iron depletion in obese premenopausal females. *Obesity (Silver Spring).* 2010 Jul;18(7):1449-56. doi: 10.1038/oby.2009.319. Epub 2009 Oct 8.
74. Bekri S, Gual P, Anty R, Luciani N, Dahman M, Ramesh B, Iannelli A, Staccini-Myx A, Casanova D, Ben Amor I, Saint-Paul MC, Huet PM, Sadoul JL, Gugenheim J, Srai SK, Tran A, Le Marchand-Brustel Y. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology.* 2006 Sep;131(3):788-96.
75. Cepeda-Lopez AC, Osendarp SJ, Melse-Boonstra A, Aeberli I, Gonzalez-Salazar F, Feskens E, Villalpando S, Zimmermann MB. Sharply higher rates of iron deficiency in obese Mexican women and children are predicted by obesity-related inflammation rather than by differences in dietary iron intake. *Am J Clin Nutr.* 2011 May;93(5):975-83. doi: 10.3945/ajcn.110.005439. Epub 2011 Mar 16.
76. Dao MC, Sen S, Iyer C, Klebenov D, Meydani SN. Obesity during pregnancy and fetal iron status: is Hepcidin the link? *J Perinatol.* 2013 Mar;33(3):177-81. doi: 10.1038/jp.2012.81. Epub 2012 Jun 21.
77. Cetin, F. Parisi, C. Berti, C. Mando`and G. Desoye. Placental fatty acid transport in maternal obesity. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease.* 2012, 3(6), 409–414. doi:10.1017/S2040174412000414.
78. Mandò C, Tabano S, Colapietro P, Pileri P, Colleoni F, Avagliano L, Doi P, Bulfamante G, Miozzo M, Cetin I. Placenta. Transferrin receptor gene and protein expression and localization in human IUGR and normal term placentas. 2011 Jan;32(1):44-50. doi: 10.1016/j.placenta.2010.10.009. Epub 2010 Oct 30.

79. Evans P, Cindrova-Davies T, Muttukrishna S, Burton GJ, Porter J, Jauniaux E. Hcpidin and iron species distribution inside the first-trimester human gestational sac. *Mol Hum Reprod*. 2011 Apr;17(4):227-32. doi: 10.1093/molehr/gaq101. Epub 2010 Dec 22.
80. Norman JE, Reynolds RM. The consequences of obesity and excess weight gain in pregnancy. *Proc Nutr Soc*. 2011 Nov;70(4):450-6. doi: 10.1017/S0029665111003077. Epub 2011 Aug 31.
81. Heslehurst N, Simpson H, Ells LJ, Rankin J, Wilkinson J, Lang R, Brown TJ, Summerbell CD. The impact of maternal BMI status on pregnancy outcomes with immediate short-term obstetric resource implications: a meta-analysis. *Obes Rev*. 2008 Nov;9(6):635-83. doi: 10.1111/j.1467-789X.2008.00511.x. Epub 2008 Jul 29.
82. Knight M, Kurinczuk JJ, Spark P, Brocklehurst P; UK Obstetric Surveillance System. Extreme obesity in pregnancy in the United Kingdom. *Obstet Gynecol*. 2010 May;115(5):989-97. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181da8f09.
83. Homer CS, Kurinczuk JJ, Spark P, Brocklehurst P, Knight M. Planned vaginal delivery or planned caesarean delivery in women with extreme obesity. *BJOG*. 2011 Mar;118(4):480-7. doi: 10.1111/j.1471-0528.2010.02832.x. Epub 2011 Jan 18.
84. L'Abée C, Vrieze I, Kluck T, Erwich JJ, Stolk RP, Sauer PJ. Parental factors affecting the weights of the placenta and the offspring. *J Perinat Med*. 2011 Jan;39(1):27-34. doi: 10.1515/JPM.2010.119. Epub 2010 Oct 18.
85. Farley DM, Choi J, Dudley DJ, Li C, Jenkins SL, Myatt L, Nathanielsz PW. Placental amino acid transport and placental leptin resistance in pregnancies complicated by maternal obesity. *Placenta*. 2010 Aug;31(8):718-24. doi: 10.1016/j.placenta.2010.06.006. Epub 2010 Jul 7.
86. Zhu MJ, Ma Y, Long NM, Du M, Ford SP. Maternal obesity markedly increases placental fatty acid transporter expression and fetal blood triglycerides at midgestation in the ewe. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010 Nov;299(5):R1224-31. doi: 10.1152/ajpregu.00309.2010. Epub 2010 Sep 15.
87. Dubé E, Gravel A, Martin C, Desparois G, Moussa I, Ethier-Chiasson M, Forest JC, Giguère Y, Masse A, Lafond J. Modulation of fatty acid transport and metabolism by maternal obesity in the human full-term placenta. *Biol Reprod*. 2012 Jul 19;87(1):14, 1-11. doi: 10.1095/biolreprod.111.098095. Print 2012 Jul.

88. Frias AE, Morgan TK, Evans AE, Rasanen J, Oh KY, Thornburg KL, Grove KL. Maternal high-fat diet disturbs uteroplacental hemodynamics and increases the frequency of stillbirth in a nonhuman primate model of excess nutrition. *Endocrinology*. 2011 Jun;152(6):2456-64. doi: 10.1210/en.2010-1332. Epub 2011 Mar 29.
89. Ramsay JE, Ferrell WR, Crawford L, Wallace AM, Greer IA, Sattar N. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Sep;87(9):4231-7. Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic, vascular, and inflammatory pathways.
90. Hou Y, Zhang S, Wang L, Li J, Qu G, He J, Rong H, Ji H, Liu S. Estrogen regulates iron homeostasis through governing hepatic hepcidin expression via an estrogen response element. *Gene*. 2012 Dec 15;511(2):398-403. doi: 10.1016/j.gene.2012.09.060. Epub 2012 Oct 3.
91. Ikeda Y, Tajima S, Izawa-Ishizawa Y, Kihira Y, Ishizawa K, Tomita S, Tsuchiya K, Tamaki T. Estrogen regulates hepcidin expression via GPR30-BMP6-dependent signaling in hepatocytes. *PLoS One*. 2012;7(7):e40465. doi: 10.1371/journal.pone.0040465. Epub 2012 Jul 11.
92. Clarke J. Observations on some causes of excess mortality of males above that of females. *Philos Trans R Soc Lond* 1786;76:349–64.
93. Moritz KM, Cuffe JS, Wilson LB, Dickinson H, Wlodek ME, Simmons DG, Denton KM: Review: sex specific programming: a critical role for the renal renin-angiotensin system. *Placenta* 2010, 31(Suppl):S40–S46.
94. Hemberger M. The role of the X chromosome in mammalian extra embryonic development. *Cytogenet Genome Res* 2002, 99:210–217.
95. Gabory A, Attig L, Junien C: Sexual dimorphism in environmental epigenetic programming. *Mol Cell Endocrinol* 2009, 25:8–18.
96. Gabory A, Ferry L, Fajardy I, Jouneau L, Gothie JD, Vige A, Fleur C, Mayeur S, Gallou-Kabani C, Gross MS, et al. Maternal diets trigger sex-specific divergent trajectories of gene expression and epigenetic systems in mouse placenta. *PLoS One* 2012, 7:e47986.
97. Cvitic S, Longtine MS, Hackl H, Wagner K, Nelson MD, Desoye G, Hiden U. The human placental sexome differs between trophoblast epithelium and villous vessel endothelium. *PLoS One*. 2013 Oct 29;8(10):e79233. doi: 10.1371/journal.pone.0079233. ECollection 2013.

98. Ghidini A, Salafia CM. Histologic placental lesions in women with recurrent preterm delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005 Jun;84(6):547-50.
99. Stark MJ, Clifton VL, Wright IM. Neonates born to mothers with preeclampsia exhibit sex-specific alterations in microvascular function. *Pediatr Res*. 2009 Mar;65(3):292-5.
100. Stark MJ, Dierkx L, Clifton VL, Wright IM. Alterations in the maternal peripheral microvascular response in pregnancies complicated by preeclampsia and the impact of fetal sex. *J Soc Gynecol Investig*. 2006 Dec;13(8):573-8. Epub 2006 Oct 19.
101. Stark MJ, Clifton VL, Wright IM. Sex-specific differences in peripheral microvascular blood flow in preterm infants. *Pediatr Res* 2008;63:415–9.
102. Scott NM, Hodyl NA, Murphy VE, Osei-Kumah A, Wyper H, Hodgson DM, et al. Placental cytokine expression covaries with maternal asthma severity and fetal sex. *J Immunol* 2009;182:1411–20.
103. Goldenberg RL, Andrews WW, Faye-Petersen OM, Goepfert AR, Cliver SP, Hauth JC. The Alabama Preterm Birth Study: intrauterine infection and placental histologic findings in preterm births of males and females less than 32 weeks. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195:1533–7.
104. Geary MP, Pringle PJ, Rodeck CH, Kingdom JC, Hindmarsh PC. Sexual dimorphism in the growth hormone and insulin-like growth factor axis at birth. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3708–14.
105. Clifton VL, Hodyl NA, Murphy VE, Giles WB, Baxter RC, Smith R. Effect of maternal asthma, inhaled glucocorticoids and cigarette use during pregnancy on the newborn insulin-like growth factor axis. *Growth Horm IGF Res* 2009 Aug 18.