



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA

Direttore: Prof. Roberto Vettor

U.O. DIABETOLOGIA

Direttore: Prof.ssa Annunziata Lapolla

TESI DI LAUREA

OUTCOMES DELLE GRAVIDANZE DA PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA COMPLICATE DA DIABETE GESTAZIONALE

Relatore:

Prof.ssa Annunziata Lapolla

Laureanda:

Anna Marchetto

Matricola n° 1139609

Correlatore:

Dott.ssa Maria Grazia Dalfra'

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

1. ABSTRACT	pag. 1
2. INTRODUZIONE	pag. 5
A. PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA	pag. 5
A.1 DEFINIZIONE E A CHI È RIVOLTA	pag. 5
A.2 INFERTILITÀ E STERILITÀ	pag. 6
A.2.1 ITER DIAGNOSTICO PER LA DIAGNOSI DI INFERTILITÀ	
A.3 TECNOLOGIE DI RIPRODUZIONE ASSISTITA “ART”	pag. 9
A.3.1 TECNICHE DI PRIMO LIVELLO	
A.3.2 TECNICHE DI SECONDO LIVELLO	
A.3.3 TECNICHE DI TERZO LIVELLO	
A.4 RISULTATI ED EFFICACIA	pag. 14
A.5 CRITICITÀ E COMPLICAZIONI	pag. 16
B. DIABETE MELLITO GESTAZIONALE	pag. 17
B.1 DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA	pag. 17
B.2 FATTORI DI RISCHIO	pag. 19
B.2.1 RELAZIONE TRA GDM, DIETA E ATTIVITÀ FISICA	
B.3 PATOGENESI	pag. 22
B.3.1 DISFUNZIONE BETA-CELLULARE	
B.3.2 INSULINO-RESISTENZA CRONICA	
B.3.3 RETI NEURORMONALI - LEPTINA E ADIPONECTINA	
B.3.4 TESSUTO ADIPOSO	
B.3.5 STRESS OSSIDATIVO	
B.4 IMPLICAZIONI PER MADRE E FETO	pag. 25
B.5 DIAGNOSI E LINEE GUIDA	pag. 28
B.6 TRATTAMENTO, FOLLOW-UP E PREVENZIONE	pag. 31
C. RELAZIONE TRA GDM E PMA	pag. 34
C.1 EVIDENZE ATTUALI SULLA RELAZIONE TRA GDM E PMA	pag. 34
3. SCOPO DELLO STUDIO	pag. 40
4. MATERIALI E METODI	pag. 41
4.1 POPOLAZIONE STUDIATA	pag. 41

4.2 METODI	pag. 41
4.3 ANALISI STATISTICA	pag. 43
5. RISULTATI	pag. 44
6. DISCUSSIONE	pag. 56
7. CONCLUSIONI	pag. 61
8. BIBLIOGRAFIA	pag. 62

1. ABSTRACT

BACKGROUND

La procreazione medicalmente assistita (PMA) è l'insieme delle tecniche utilizzate per favorire il concepimento nelle coppie in cui quest'ultimo risulta impossibile o estremamente remoto o nei casi in cui altri interventi farmacologici e/o chirurgici si sono dimostrati inadeguati.

Il diabete mellito gestazionale (GDM) è un'intolleranza al glucosio che si sviluppa o viene diagnosticata per la prima volta in gravidanza e si risolve solitamente non molto tempo dopo il parto. Si tratta di una condizione temporanea ma, se non adeguatamente diagnosticata e trattata, può comportare un aumentato rischio di complicanze materne e fetali.

Con l'ascesa delle tecniche di PMA, il numero di gravidanze complicate da disturbi endocrini, tra cui spicca il diabete gestazionale, è aumentato, ma il correlato aumento del rischio di complicanze materne e fetali può essere ridotto al minimo grazie ad una adeguata gestione e osservazione clinica.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo di questo studio è valutare gli outcomes materni e neonatali delle gravidanze complicate da GDM e insorte tramite PMA rispetto alle gravidanze insorte naturalmente.

MATERIALI E METODI

Sono state considerate 670 donne con GDM, seguite dall'ambulatorio dell'U.O. di Diabetologia dell'ULSS 6 Euganea di Padova nel periodo 2010-2022. In particolare, sono state messe a confronto 229 pazienti con anamnesi positiva per modalità di fecondazione tramite PMA e 441 pazienti con anamnesi positiva per modalità di fecondazione naturale. Sono state valutate le caratteristiche clinico-metaboliche, gli outcomes materno-neonatali e le caratteristiche delle gravidanze gemellari.

RISULTATI

Non si sono evidenziate differenze statisticamente significative per quanto concerne le caratteristiche clinico-metaboliche delle pazienti analizzate e i fattori di rischio, se non per il valore della prima glicemia, significativamente superiore nelle donne del gruppo di controllo ($88,1 \pm 10,7$ vs $86,2 \pm 12,5$ mg/dl, $p = 0,046$), per la percentuale di parti gemellari, significativamente più elevata nelle donne sottoposte a PMA (16,2% vs 2,5%, $p < 0,001$) e per il pregresso GDM, riscontrato in percentuale significativamente maggiore nelle pazienti con fecondazione spontanea (20% vs 2,6%, $p < 0,001$). I valori del profilo lipidico alla diagnosi sono significativamente superiori nelle donne sottoposte a PMA, così come i valori dell'OGTT 75g diagnostico al tempo 120' ($152,8 \pm 31,8$ vs $147,4 \pm 32,2$ mg/dl, $p = 0,043$).

L'outcome materno vede una differenza statisticamente significativa solo per quanto riguarda la presenza di tireopatie, registrata in percentuale maggiore nelle donne sottoposte a PMA (21,4% vs 14,3%, $p = 0,008$). Sia per quanto riguarda le gravidanze singole sia per quelle gemellari, nelle donne sottoposte a PMA si evidenzia una percentuale maggiore di parto cesareo.

Per quanto concerne l'outcome neonatale non si rilevano differenze statisticamente significative, se non per il peso alla nascita del secondo gemello, che risulta significativamente inferiore nelle donne sottoposte a PMA ($2267,8 \pm 536,6$ vs $2821,7 \pm 296,9$ g, $p = 0,021$).

CONCLUSIONI

Il nostro studio non ha mostrato differenze per quel che riguarda gli outcomes delle gravidanze complicate da GDM ed insorte tramite PMA rispetto alle gravidanze complicate da GDM ma insorte spontaneamente poiché le pazienti sono state tempestivamente diagnosticate e trattate.

1. ABSTRACT

BACKGROUND

Medically assisted procreation (MAP) is the set of techniques used to facilitate conception in couples where the latter is impossible or extremely remote or in cases where other pharmacological and/or surgical interventions have proved inadequate.

Gestational diabetes mellitus (GDM) is a glucose intolerance that develops or is diagnosed for the first time in pregnancy and usually resolves not long after delivery. It is a temporary condition but, if not properly diagnosed and treated, it can lead to an increased risk of maternal and foetal complications.

With the rise of PMA techniques, the number of pregnancies complicated by endocrine disorders, notably gestational diabetes, has increased, but the related increased risk of maternal and foetal complications can be minimised through proper management and clinical observation.

PURPOSE OF THE STUDY

The aim of this study is to evaluate the outcomes of pregnancies complicated by GDM and arising via PMA compared to pregnancies arising naturally.

MATERIALS AND METHODS

670 women with GDM, followed by the U.O. of Diabetology of ULSS 6 Euganea of Padua in the period 2010-2022, were considered. In particular, 229 patients with a positive anamnesis for modality of fertilization through MAP and 441 patients with a positive anamnesis for modality of natural fertilization were compared. Clinical-metabolic characteristics, maternal-foetal outcomes and characteristics of twin pregnancies were evaluated.

RESULTS

There were no statistically significant differences in the clinical-metabolic characteristics of the analysed patients and risk factors, except for the value of the first glycaemia, which was significantly higher in the women in the control group

($88,1 \pm 10,7$ vs. $86,2 \pm 12,5$ mg/dl, $p = 0,046$), for the percentage of twin deliveries, which was significantly higher in women undergoing PMA (16,2% vs 2,5%, $p < 0,001$) and for previous GDM, which was found in a significantly higher percentage in patients with spontaneous fertilisation (20% vs 2,6%, $p < 0,001$). The lipid profile values at diagnosis are significantly higher in women undergoing PMA, as are the values of the diagnostic OGTT 75g at time 120' ($152,8 \pm 31,8$ vs $147,4 \pm 32,2$ mg/dl, $p = 0,043$).

The maternal outcome saw a statistically significant difference only in the presence of thyroid disease, which was recorded in a higher percentage in women undergoing PMA (21,4% vs 14,3%, $p = 0,008$). With regard to both single and twin pregnancies, a higher percentage of caesarean section delivery was reported in women undergoing PMA.

With regard to the neonatal outcome there were no statistically significant differences, except for the birth weight of the second twin, which was significantly lower in women undergoing PMA ($2267,8 \pm 536,6$ vs $2821,7 \pm 296,9$ g, $p = 0,021$).

CONCLUSIONS

Our study showed no differences in the outcomes of GDM-complicated pregnancies that occurred via PMA compared to GDM-complicated pregnancies that arose spontaneously as the patients were promptly diagnosed and treated.

2. INTRODUZIONE

A. PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA (PMA)

A.1 DEFINIZIONE E A CHI È RIVOLTA

La procreazione medicalmente assistita (PMA) è l'insieme delle tecniche utilizzate per favorire il concepimento nelle coppie in cui il concepimento spontaneo risulta impossibile o estremamente remoto e nei casi in cui altri interventi farmacologici e/o chirurgici si sono dimostrati inadeguati [1]. Essa si avvale quindi di diversi tipi di procedure nell'ambito di un trattamento finalizzato alla realizzazione di una gravidanza [1].

In Italia, l'accesso alla PMA è regolamentato dalla legge numero 40 dell'anno 2004 [2]. Secondo l'articolo 4, "il ricorso alle tecniche di PMA è consentito solo quando sia accertata l'impossibilità di rimuovere altrimenti le cause impeditive della procreazione ed è comunque circoscritto ai casi di sterilità o di infertilità inspiegate documentate da atto medico nonché ai casi di sterilità o di infertilità da causa accertata e certificata da atto medico" [3]. Lo stesso articolo specifica anche che "le tecniche di PMA sono applicate in base ai principi di gradualità, al fine di evitare il ricorso ad interventi aventi un grado di invasività tecnico e psicologico più gravoso per i destinatari, e di consenso informato" [3]. All'articolo 5 vengono poi specificati i requisiti necessari per ricorrere alla PMA, specificando che "possono accedere alle tecniche di PMA coppie di maggiorenni di sesso diverso, coniugate o conviventi, in età potenzialmente fertile, entrambi viventi" [3].

I dati emersi dalla relazione del Ministero della Salute riguardo all'attività dei centri italiani di procreazione medicalmente assistita per l'anno 2018, sono riportati in Tab. I [4]:

Centri attivi	345
Coppie trattate	77.509
Nati vivi	14.139
Percentuale di nati vivi tramite PMA rispetto al totale dei nati vivi in Italia in tutto il 2018	3,2%

Tab. I Attività dei centri italiani di PMA anno 2018, relazione del Ministero della Salute

Dalla relazione emerge anche che l'indicatore di attività della PMA relativo al 2018, che misura l'offerta di cicli totali di trattamento per le tecniche di II e III livello per milione di donne in età fertile residenti in Italia, è in aumento rispetto all'anno precedente, anche se risulta essere inferiore rispetto alla media europea [4].

A.2 INFERTILITÀ E STERILITÀ

L'infertilità è sempre stata considerata uno stigma sociale ed è stata spesso trattata come un'esperienza socialmente, mentalmente e fisicamente dannosa soprattutto per la donna. L'incapacità di avere figli è generalmente considerata un fallimento personale a causa del mancato raggiungimento da parte della coppia del ruolo biologico della genitorialità [5].

L'infertilità è definita come il mancato raggiungimento di una gravidanza dopo 12 mesi o più di rapporti sessuali regolari e non protetti. Questa condizione andrebbe distinta dalla sterilità, la quale risulta essere una situazione in cui uno o entrambi i coniugi sono affetti da una condizione fisica permanente che non rende possibile la procreazione. Ai fini della trattazione, però, i termini di infertilità e sterilità verranno utilizzati con lo stesso significato [6].

Si stima che questa condizione colpisca circa 186 milioni di persone nel mondo e circa l'8-12% delle coppie in età riproduttiva a livello globale. Tuttavia, in zone quali Asia meridionale, Africa subsahariana, Medio Oriente, Nord Africa, Europa centrale e orientale e Asia centrale, i tassi di infertilità sono molto più elevati e arrivano a coprire circa il 30% della popolazione [7]. Inoltre, si prevede che l'infertilità aumenterà in futuro, pertanto una valutazione diagnostica completa della condizione è fondamentale per ottenere un miglioramento a livello di prevenzione e trattamento [8].

A seconda dei vari studi, le cause di infertilità sono da attribuire nel 33–41% dei casi ad un fattore esclusivamente femminile, nel 25-39% dei casi ad un fattore esclusivamente maschile e nel 9–39% dei casi ad una combinazione di fattori maschili e femminili [7]. A ciò bisogna aggiungere il fatto che in circa il 30% delle coppie sterili si ricade nella condizione di infertilità inspiegabile, definita come la mancanza di una causa evidente alla base dell'infertilità di coppia [8].

Le più comuni cause dell'infertilità femminile risultano essere i disturbi dell'ovulazione come la sindrome dell'ovaio policistico, la disfunzione ipotalamica, l'insufficienza ovarica prematura, l'infertilità tubarica, l'endometriosi e/o le cause uterine e cervicali [9]. Concorrono poi allo sviluppo della condizione anche le anomalie genetiche sottostanti, l'esposizione a determinati fattori ambientali, le neoplasie ginecologiche, la disgenesia ovarica, i difetti di maturazione degli oociti e gli aborti sporadici ricorrenti [10].

Le più comuni cause di infertilità maschile sono invece la funzione alterata dello sperma, i blocchi che impediscono il rilascio dello sperma, il varicocele, lo squilibrio ormonale, le neoplasie maligne delle strutture genitali, le infezioni e la presenza di anticorpi anti-spermatozoi [9]. A queste vanno aggiunte anche i disturbi dello sviluppo sessuale, il criptorchidismo, l'ipospadia, la sindrome da disgenesia testicolare, ma anche fattori ambientali che possono agire direttamente o tramite meccanismi epigenetici a livello del sistema endocrino dell'uomo adulto e anche le alterazioni genetiche che influiscono negativamente sullo sviluppo dei testicoli, sullo sviluppo delle cellule germinali o sulla maturazione degli spermatozoi [11]. È inoltre stato evidenziato che possono condurre all'insufficienza gonadica e all'incapacità di raggiungere una gravidanza anche [8]:

- Disturbi a livello dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonade;
- Disturbi della tiroide quali l'ipotiroidismo, soprattutto nei casi in cui risulta associato alla presenza di anticorpi anti-tireoperossidasi;
- Disturbi intestinali come il malassorbimento della vitamina D, importante regolatrice della produzione di ormoni testicolari, dei parametri seminali e della fertilità maschile;
- Iperattività del sistema immunitario con mimetismo molecolare, che conduce alla situazione di infertilità immunologica, la quale è caratterizzata dalla produzione spontanea di auto-anticorpi che interagiscono con gli antigeni presenti a livello dei gametociti maschili o femminili;
- Deregolazione metabolica multi-sistemica con comparsa di iperandrogenismo, iperinsulinemia/insulino-resistenza, alterazioni dei livelli di estrone, ormone luteinizzante e ormone follicolo-stimolante [8].

A.2.1 ITER DIAGNOSTICO PER LA DIAGNOSI DI INFERTILITÀ

Per la diagnosi di infertilità è preferibile che i membri della coppia siano esaminati insieme durante il colloquio poiché entrambi sono interessati dall'indagine e dal trattamento della condizione [12].

Il primo step da cui partire per la valutazione diagnostica è chiaramente l'anamnesi, con particolare attenzione a: eventualità di precedenti concepimenti per discriminare tra infertilità primaria (nessun precedente concepimento) o secondaria (precedente concepimento), età di entrambi i partner, sviluppo puberale, durata del tentativo di concepimento, frequenza dei rapporti sessuali, anamnesi farmacologica, utilizzo di alcol, abitudine al fumo, eventuali interventi chirurgici pelvici o inguinali, malattie sessualmente trasmissibili, malattie sistemiche e anamnesi familiare [13]. Inoltre, bisogna esaminare: [14] [Tab. II]

Partner femminile	Partner maschile
Anamnesi mestruale	Alterazioni della libido
Terapia contraccettiva/ormonale	Impotenza sessuale
Precedenti gravidanze	Ginecomastia
Sintomi da iperandrogenismo	Pregresso criptorchidismo
Sintomi da insulino-resistenza	Traumi pregressi
Stress/Esercizio fisico eccessivo	Orchiti e parotiti

Tab. II Valutazione anamnestica della coppia infertile

Lo step successivo è l'esame obiettivo, in cui risulta fondamentale considerare: BMI, caratteri sessuali secondari, distribuzione dei peli corporei, valutazione del campo visivo per possibile disfunzione ipofisaria, irsutismo, esame pelvico, ginecomastia, valutazione del volume testicolare [13].

Segue poi la valutazione degli esami di laboratorio e di imaging; secondo le raccomandazioni UnitedHealthcare i seguenti test o procedure sono provati e necessari per diagnosticare l'infertilità [15]:

- Per l'uomo: spermioγραμμα, anticorpi antispermatozoi, test di screening genetico, livelli ormonali di LH, FSH, prolattina, testosterone totale e libero, conta leucocitaria nello sperma, analisi delle urine post-eiaculatoria, ecografia scrotale/testicolare/transrettale, biopsia testicolare e vasografia.

- Per la donna: conta dei follicoli antrali, test di provocazione del citrato di clomifene, concentrazioni di ormone antimulleriano, FSH, LH, PRL, TSH e i livelli di estradiolo e progesterone. Inoltre, si può ricorrere anche all'isterosalpingogramma e all'isteroscopia diagnostica laparoscopia [15].

Secondo la letteratura, però, un "set diagnostico minimo" comunemente accettato per l'infertilità è inesistente. Gli esami vanno quindi eseguiti partendo dalle procedure meno invasive e prendendo in considerazione anche il rapporto costo-efficacia di ogni test [16].

A.3 TECNOLOGIE DI RIPRODUZIONE ASSISTITA (ART)

Una volta completata e confermata la diagnosi di infertilità, il trattamento della coppia sterile si basa su tre principali opzioni [6]:

- I. Trattamento medico per ripristinare la fertilità;
- II. Trattamento chirurgico per ripristinare la fertilità;
- III. Accesso alle procedure PMA [6].

Per tecniche di procreazione medicalmente assistita, spesso identificate con l'acronimo "ART" dall'inglese Assisted Reproductive Technology, si intendono tutti quei procedimenti effettuati con modalità sia di tipo omologo che eterologo che comportano il trattamento di oociti umani, spermatozoi o embrioni nell'ambito di un progetto finalizzato alla realizzazione di una gravidanza [6]. Le linee guida italiane suddividono queste procedure in tecniche di I, II e III livello in ragione della loro complessità e del grado di invasività tecnica. Il principio da seguire nella scelta del tipo di tecnica da utilizzare è quello di ricorrere in prima istanza alle opzioni terapeutiche più semplici, meno invasive e meno onerose, tenendo in debito conto anche l'età della donna e la causa dell'infertilità della coppia [6].

A.3.1 TECNICHE DI PRIMO LIVELLO

A) Inseminazione intrauterina (IUI).

Procedura in cui lo sperma viene prima crioconservato ed elaborato in laboratorio tramite centrifugazione contro gradienti di intensità e lavaggio, e poi viene inserito a livello della cavità uterina della donna utilizzando un piccolo catetere al momento dell'ovulazione [17]. Il rationale è che gli spermatozoi mobili e

morfologicamente normali vengano concentrati in un piccolo volume e collocati direttamente nell'utero vicino all'ovocita rilasciato bypassando la cervice [17]. Durante la IUI possono anche essere utilizzati farmaci per effettuare un'iperstimolazione ovarica, spesso rappresentati da clomifene citrato, inibitori dell'aromatasi e gonadotropine umane [17].

B) Inseminazione intracervicale (ICI).

Procedura in cui lo sperma viene crioconservato senza precedente elaborazione, e viene solo scongelato al momento necessario per essere rilasciato a livello dell'orifizio cervicale esterno tramite un cappuccio o una cannuccia che fungono da serbatoio ectocervicale e vengono lasciati in sede per alcune ore [18]. Anche in questo caso, l'inseminazione può avvenire durante il ciclo ormonale naturale o dopo il trattamento farmacologico di iperstimolazione ovarica [18].

C) Perfusione spermatica delle tube di Falloppio (FSP).

Procedura effettuata con minore frequenza. La preparazione dello sperma è identica a quella dell'IUI ma il volume di soluzione iniettata risulta essere maggiore e la sede di rilascio è la tuba di Falloppio. La procedura si serve anche di vari metodi che impediscono il reflusso della soluzione inseminata [19].

D) Inseminazione intraperitoneale (IPI).

Procedura utilizzata molto di rado in cui il liquido seminale capacitato viene iniettato direttamente nel peritoneo; a questo livello le tube "risucchiano" al loro interno sia gli spermatozoi che gli ovociti, i quali potranno incontrarsi e dare origine alla fecondazione [20].

Secondo le linee guida italiane del 2015, il ricorso all'uso delle tecniche di PMA di primo livello è giustificato in caso di [6]:

- Infertilità maschile di grado lieve-moderato;
- Endometriosi I-II stadio e casi selezionati di III-IV stadio della classificazione dell'American Fertility Society;
- Fattore cervicale;
- Patologie sessuali e coitali;
- Prevenzione del rischio di trasmissione di malattie infettive in coppie sierodiscordanti;

- Sterilità inspiegata;
- Ripetuti insuccessi di induzione della gravidanza con stimolazione dell'ovulazione e rapporti mirati [6].

A.3.2 TECNICHE DI SECONDO LIVELLO

E) Fecondazione in vitro e trasferimento dell'embrione (FIVET/IVF).

È una delle forme più utilizzate di ART in quanto ad oggi è responsabile rispettivamente dell'1,6% e del 4,5% dei nati vivi negli Stati Uniti e in Europa [21]. La procedura inizia con la stimolazione ovarica a cui segue l'iniezione di analoghi del GnRH per eliminare il fisiologico picco femminile di LH, al fine di consentire il

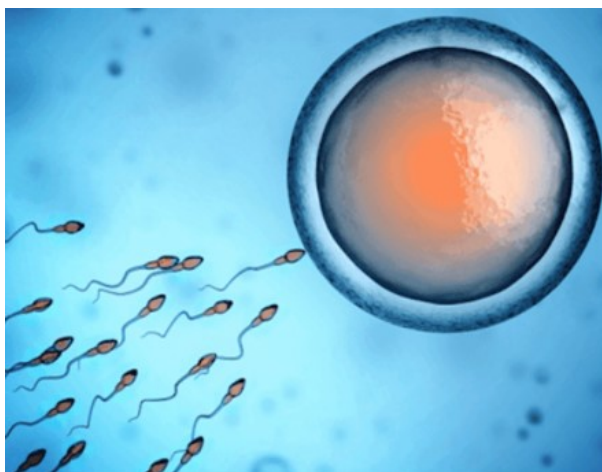


Fig. 1 Fecondazione in capsula di Petri

recupero degli ovociti stimolati tramite un'aspirazione transvaginale ecoguidata degli stessi, eseguita in sedazione endovenosa dopo 34-36 ore dalla somministrazione di hCG [22]. A seguire, gli spermatozoi maschili precedentemente trattati e potenziati vengono fatti fecondare con gli ovociti femminili usando come supporto una capsula di Petri ed è proprio questo che conferisce l'epiteto "in vitro" all'intera procedura, come visibile in Fig. 1 [22]. Infine, gli embrioni fecondati vengono trasferiti all'interno dell'utero materno tramite un catetere sotto guida ecografica transaddominale. Il numero di embrioni trasferiti dipende dallo stadio embrionale, dalla qualità dell'embrione, dall'età materna e dalle preferenze della paziente [22].

Secondo le linee guida italiane del 2015, si ricorre alla FIVET in caso di [6]:

- Infertilità maschile di grado moderato in cui il trattamento medico-chirurgico o le inseminazioni intrauterine non hanno dato risultati o sono stati giudicati non appropriati;

- Endometriosi di III o IV grado; Endometriosi di qualsiasi grado in cui la chirurgia o le inseminazioni intrauterine non abbiano dato risultati o siano state giudicate non appropriate;
- Fattore tubo-peritoneale, ossia patologia tubarica acquisita o congenita come precedente gravidanza ectopica, aborti tubarici, anamnesi positiva per flogosi pelvica o interventi chirurgici a livello della pelvi;
- Seme crioconservato, in relazione alla qualità dello stesso successiva allo scongelamento;
- Infertilità inspiegata se il trattamento precedente non ha dato risultati o è stato giudicato non appropriato;
- Fallimento dell'iter terapeutico a bassa tecnologia [6].

F) Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI).

È il metodo di inseminazione artificiale più utilizzato al mondo e si stima essere usato nel 66,5% dei centri che effettuano la PMA [23]. La procedura inizia con l'iperstimolazione ovarica e con il recupero degli ovociti maturi

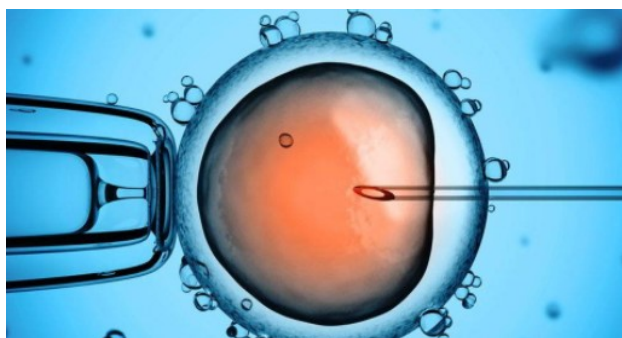


Fig. 2 Iniezione dello spermatozoo a livello intracitoplasmatico dell'ovulo femminile

mediante puntura transvaginale ecoguidata. In seguito, le cellule del cumulo degli ovociti prelevati vengono completamente denudate dai complessi cumulo-ovocita mediante trattamento con ialuronidasi al fine di facilitarne la fecondazione [24]. Parallelamente a ciò, il seme maschile viene recuperato ed elaborato e da questo viene aspirato in una pipetta di vetro un singolo spermatozoo, il quale viene micro-iniettato in ciascun ovocita direttamente a livello intra-citoplasmatico, come visibile in Fig. 2. Infine, gli ovociti fecondati in vitro vengono trasferiti direttamente a livello dell'utero femminile tramite un catetere [24].

Secondo le linee guida italiane del 2015, si ricorre all'ICSI in caso di [6]:

- Infertilità maschile di grado severo;
- Azoospermia ostruttiva e secretiva;

- Ridotto numero di ovociti;
- Ovociti scongelati;
- Seme crioconservato, in relazione alla qualità dello stesso successiva al suo scongelamento;
- Mancata o ridotta fecondazione in precedenti cicli di IVF [6].

G) Trasferimento intratubarico di gameti maschili e femminili (GIFT) per via transvaginale o guidata o isteroscopica.

Tecnica in cui gli ovuli e lo sperma vengono posti direttamente nella porzione ampollare della tuba di Falloppio femminile, consentendo la fecondazione in vivo a livello del sito naturale. La procedura ha inizio con la stimolazione farmacologica dell'ovulazione seguita dal prelievo degli ovuli maturi e parallelamente avviene il recupero e la preparazione del campione di sperma [25]. A seguire, a livello della tuba di Falloppio viene inserito un catetere contenente una miscela di spermatozoi e ovociti precedentemente prelevati, i quali vengono rilasciati a livello locale per far avvenire la fecondazione nel suo sito fisiologico [25].

Secondo le linee guida italiane del 2015, le indicazioni all'uso della GIFT sono simili a quelle previste per le metodiche a bassa tecnologia, a cui deve associarsi la normalità morfo-funzionale di almeno una tuba di Falloppio [6]. Il ricorso alla GIFT è quindi giustificato in caso di [25]:

- Lieve infertilità maschile;
- Endometriosi;
- Inseminazione intrauterina, inseminazione artificiale o inseminazione da donatore fallite;
- Infertilità idiopatica;
- Obiezione religiosa alla fecondazione in vitro [25].

A.3.3 TECNICHE DI TERZO LIVELLO

Se ne conoscono tre tipologie e si differenziano dalle tecniche di II livello principalmente perché necessitano dell'uso dell'anestesia generale. Esse sono [6]:

H) Trasferimento intratubarico dei gameti maschili e femminili (GIFT) per via laparoscopica.

Procedura di per sé identica a quella discussa al punto G, con la differenza che la modalità di trasferimento dei gameti avviene per via laparoscopica [6].

I) Prelievo degli ovociti per via laparoscopica.

L) Prelievo microchirurgico di gameti dal testicolo.

Procedura effettuata tramite un prelievo testicolare, epididimale, deferenziale o vescicolare con tecnica chirurgica, microchirurgica o percutanea [6].

Al giorno d'oggi, fallite le procedure di ART di ogni livello, nei casi in cui la coppia infertile rifiuti l'idea di adozione o di maternità surrogata, l'unica soluzione rimane il trapianto uterino, procedura molto specifica e che necessita della rimozione dell'organo trapiantato dopo il parto [26]. Va specificato che la tecnica è effettuabile solo in situazioni in cui lo stadio di blastocisti viene precedentemente raggiunto e crioconservato e che la procedura, sebbene controversa, risulta essere una soluzione eticamente accettabile nei casi di assoluta infertilità uterina [26].

A.4 RISULTATI ED EFFICACIA

Secondo la relazione del Ministero della Salute al Parlamento italiano sullo stato di attuazione della Legge 40/2004, dal 2005 al 2018 la quota di bambini nati da tecniche di PMA di II e III livello è più che quadruplicata (da 0,66% a 2,88%) e, aggiungendo anche i nati da tecniche di I livello, il valore dell'indicatore arriva al 3,22% [4]. In Fig. 3 viene rappresentata la percentuale di bambini nati vivi concepiti tramite tecniche di PMA di ogni livello, in confronto con i bambini nati vivi nella popolazione generale italiana dal 2005 al 2018 [4].

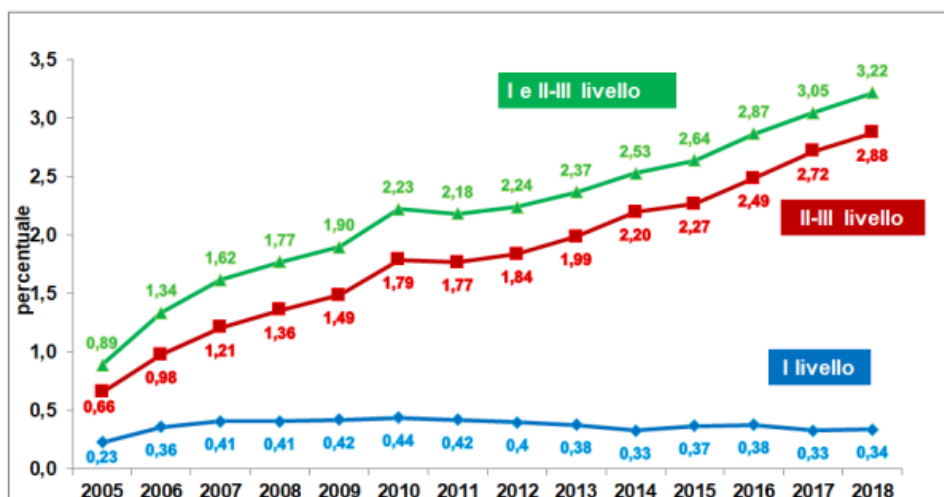


Fig. 3 Percentuale di bimbi nati vivi concepiti con tecniche di PMA di I, II e III livello rispetto ai nati vivi totali in Italia

Una delle variabili che maggiormente influisce sul buon esito dell'applicazione dell'ART è l'età della paziente, infatti, all'aumentare dell'età della donna il rapporto tra gravidanze ottenute e cicli iniziati subisce una progressiva flessione mentre il rischio che la gravidanza ottenuta non esiti in un parto aumenta [4]. Secondo la relazione del Ministero della Salute, i tassi di successo diminuiscono linearmente dal 22,2% per le pazienti con meno di 35 anni al 4,9% per quelle con più di 43 anni, concludendo che, in generale, le pazienti con più di 43 anni hanno un rischio circa 5 volte maggiore rispetto alle pazienti più giovani di interrompere la gravidanza per il verificarsi di un evento negativo [4].

Secondo una recente revisione, il risultato delle tecniche di PMA viene negativamente influenzato anche da uno scorretto stile di vita, comprendente elevato BMI, dieta non bilanciata, sedentarietà e mancanza di esercizio fisico, uso di farmaci, alcol e droghe, esposizione a tossici ambientali, alterazioni della salute psicologica, sociale e spirituale [27]. I risultati dei vari studi mostrano infatti che uno stile di vita malsano influisce negativamente sulla produzione di ossidanti liquidi follicolari, sul numero di ovociti, sulla loro qualità e tasso di fecondazione, sulla qualità degli embrioni e sul tasso di gravidanza. Fortunatamente lo stile di vita è un fattore modificabile e pertanto risultano fondamentali i programmi di consulenza svolti prima e durante il percorso di PMA con lo scopo di migliorare significativamente il tasso di successo della procedura [27].

A.5 CRITICITÀ E COMPLICANZE

Le due maggiori complicanze della PMA sono l'elevata incidenza di gravidanze multiple, prevenibile tramite il trasferimento elettivo di un singolo embrione, e la sindrome da iperstimolazione ovarica, che si verifica principalmente a causa dell'uso di hCG per stimolare la maturazione degli ovociti prima del prelievo [13].

Inoltre, sebbene la maggior parte dei bambini concepiti con le procedure ART sia sana, la PMA è stata associata non solo ad un aumentato rischio di esiti avversi ostetrici e perinatali ma anche ad un maggior rischio di esiti metabolici avversi a lungo termine [28]. Il principale responsabile dell'insorgenza di queste complicanze è l'aumentato rischio di gravidanze multiple, il quale però ad oggi è in riduzione grazie alle tecniche di trasferimento di un singolo embrione. Un fattore di rischio indipendente potrebbe poi essere l'infertilità stessa, mentre i recenti modelli animali suggeriscono come ulteriore responsabile degli eventi avversi l'insorgenza di cambiamenti epigenetici a livello dei geni coinvolti nella crescita e nello sviluppo umano durante l'applicazione delle tecniche di PMA [28].

Per quanto riguarda l'insorgenza di complicanze, una metanalisi di studi di coorte ha evidenziato un aumento del rischio di parto pretermine di circa l'80% nelle gravidanze concepite mediante IVF/ICSI rispetto a quelle concepite spontaneamente [29]. Inoltre, tra gli esiti avversi ostetrici vanno menzionati anche l'aumentato rischio di disturbi ipertensivi della gravidanza (quali ipertensione gestazionale, preeclampsia ed eclampsia) e di diabete gestazionale [28].

L'incrementato rischio di esiti avversi fetali e neonatali è invece dovuto all'aumentata comparsa di [28]-[30]:

- Basso peso alla nascita (< 2500g);
- Anomalie congenite, soprattutto malformazioni cardiache, muscoloscheletriche e genitourinarie, per le quali è stato osservato un rischio di circa un terzo più alto nei bambini concepiti con l'ausilio della tecnologia IVF rispetto ai bambini concepiti spontaneamente;
- Disturbi dell'imprinting e del neurosviluppo [28]-[30].

Oltre a ciò, sebbene l'effetto della fecondazione in vitro sulla vita postnatale sia difficile da chiarire, è stato evidenziato che i bambini concepiti tramite PMA hanno un aumentato rischio di comparsa di alterazioni cardio-metaboliche a lungo termine, quali insulino-resistenza, ipertensione arteriosa, aumentata percentuale di grasso corporeo e alterazione del profilo lipidico con aumento di colesterolo totale e LDL e riduzione di HDL [28]. Infine, una metanalisi di studi di coorte e caso-controllo ha evidenziato che i bambini nati dopo PMA hanno un aumentato rischio di comparsa di neoplasie a causa sia delle procedure messe in atto per trattare l'infertilità ma soprattutto per la condizione di infertilità sottostante [31].

In aggiunta alla comparsa di complicanze a livello prettamente organico, il lungo e tortuoso percorso di PMA può essere responsabile dell'insorgenza di effetti sulla salute mentale della coppia, soprattutto per quanto riguarda l'aumentata incidenza di stress psicologico, ansia e depressione [32]. In ragione di ciò, si auspica lo sviluppo di interventi psicosociali complessi rivolti alle coppie infertili sottoposte ad un trattamento di PMA al fine di migliorarne la salute mentale [32].

Infine, il percorso di PMA rimane inaccessibile in molte parti del mondo, in particolare nell'Africa subsahariana. A fronte della realtà attuale, è importante che la comunità globale si impegni in tre forme di attivismo, le quali prevedono [7]:

- Affrontare le cause prevenibili di infertilità;
- Fornire supporto e alternative per i soggetti infertili;
- Supportare l'emergente movimento LCIVF, acronimo di Low Cost In Vitro Fertilization, che cerca giustizia riproduttiva per coloro che convivono con l'infertilità in tutto il mondo, soprattutto nelle aree più povere [7].

B. DIABETE GESTAZIONALE

B.1 DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA

Con il termine diabete mellito gestazionale (GDM) si indica un'intolleranza al glucosio di entità variabile che si sviluppa o viene diagnosticata per la prima volta in gravidanza e si risolve solitamente dopo il parto [33].

Il GDM di per sé è una condizione temporanea ma, se non adeguatamente diagnosticata e trattata, si traduce in un aumentato rischio di complicanze materne e fetali sia nel breve che nel lungo termine [34].

A causa della transizione epidemiologica della popolazione mondiale verso l'invecchiamento e uno stile di vita più sedentario correlato all'urbanizzazione degli ultimi decenni, la prevalenza del diabete mellito di tipo 2 è in rapido aumento e l'età di esordio si sta riducendo sempre di più a livello globale [35]. Allo stesso modo, la prevalenza del GDM, una delle complicanze più comuni della gravidanza, è aumentata di oltre il 30% nelle ultime due decadi in molti paesi, inclusi quelli in via di sviluppo, formando una nuova emergente epidemia mondiale [36].

Nonostante la crescente epidemia di diabete mellito colpisca le varie popolazioni mondiali in diversi stadi della vita, la prevalenza globale del GDM non è ben valutabile in quanto mancano dati sistematicamente sintetizzati, in particolare riguardo ai paesi in via di sviluppo [37]. Inoltre, la mancanza di consenso e uniformità negli standard di screening, nella definizione e nei criteri diagnostici, mette in discussione le possibili valutazioni comparative sulla prevalenza della patologia tra paesi e regioni diverse [37]. La situazione è parzialmente cambiata con l'introduzione dei nuovi criteri diagnostici per il GDM derivati dai risultati dello studio HAPO (Hyperglycaemia and Adverse Pregnancy Outcome), proposti nel 2010 dalla IADPSG (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups) e successivamente adottati in molte realtà nazionali e dall'OMS stessa [38].

Sulla base dei dati raccolti da uno studio del 2016 che fornisce una panoramica relativa ai dati epidemiologici globali del GDM negli ultimi anni, il Medio Oriente e il Nord Africa presentano la più alta prevalenza di malattia con una stima mediana del 12,9%, seguiti da Sud-est asiatico, Pacifico occidentale, America meridionale e centrale, Africa, Nord America e Caraibi, mentre l'Europa registra la prevalenza più bassa con una mediana del 5,8 %, come visibile anche nella Fig. 4 [37].

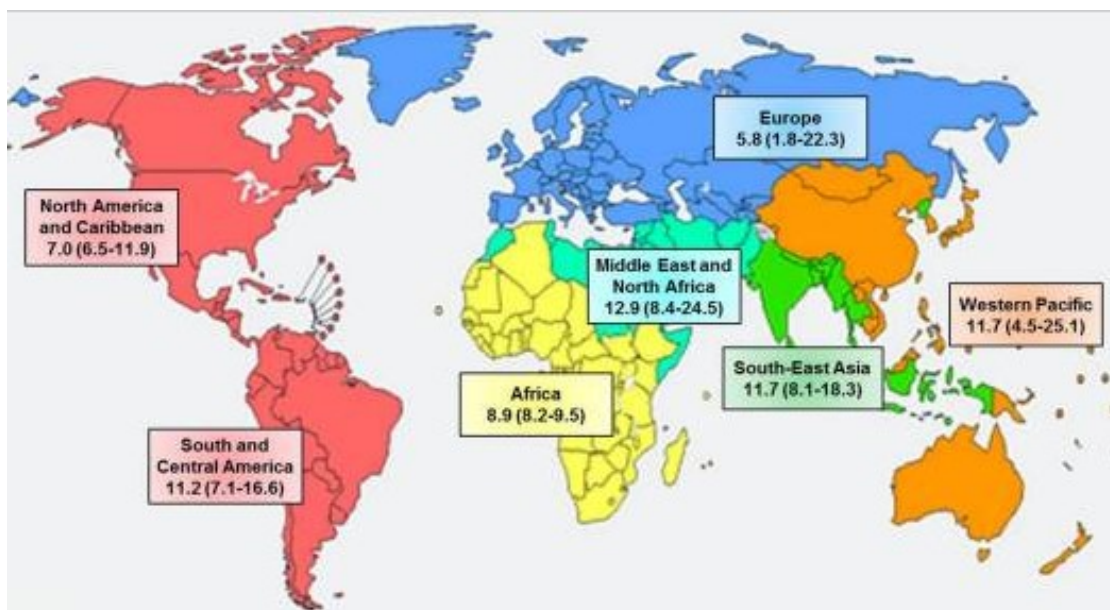


Fig. 4 Prevalenza mediana (intervallo interquartile) (%) di GDM per regione dell'OMS, 2005–2015. <http://www.who.int/about/regions/en/>

B.2 FATTORI DI RISCHIO

Gli studi epidemiologici sui fattori di rischio per il GDM sono relativamente limitati e, in aggiunta, i criteri diagnostici, la strategia di screening e le misurazioni degli stessi fattori di rischio variano in modo significativo tra i differenti periodi di studio e le popolazioni oggetto di studio, il che rende difficile il confronto dei risultati emersi dai vari lavori [39]. Inoltre, il numero effettivo di casi di GDM analizzati nella maggior parte degli studi è piuttosto esiguo, il che impedisce di raggiungere solide conclusioni [39].

Tra i fattori di rischio più documentati si annoverano l'età materna ≥ 35 anni, la familiarità di primo grado per diabete, il riscontro di GDM in una precedente gravidanza, un pregresso parto di neonato macrosomico, l'etnia non caucasica, il sovrappeso, l'obesità e il fumo di sigaretta [40].

Nell'ultimo decennio, molti studi epidemiologici osservazionali, revisioni e loro metanalisi, hanno fornito chiare evidenze anche in merito alla relazione esistente tra lo svolgimento di attività fisica ricreativa prima e/o durante la gravidanza e la riduzione del rischio di insorgenza di GDM [40]. Nel Nurses' Health Study II (NHS-II) è stato osservato che l'attività fisica risulta essere significativamente associata ad una riduzione del rischio di sviluppare la patologia, in particolare se svolta in

maniera vigorosa [41]. Inoltre, è stato dimostrato che nelle donne che non possono o non riescono a svolgere un'attività fisica vigorosa, anche una semplice camminata a passo sostenuto o il salire e scendere le scale sono associati ad una riduzione del rischio di comparsa di GDM [41].

Anche l'etnia contribuisce alla maggiore o minore insorgenza di GDM in quanto è stato osservato che le donne di origine asiatica, ispanica e nativa americana hanno un rischio maggiore di comparsa della patologia rispetto alle donne bianche non ispaniche [40]. Da alcuni studi è inoltre emerso che le donne afroamericane presentano un rischio maggiore di sviluppare il GDM rispetto alle donne bianche non ispaniche [40].

Infine, anche se con minore autorevolezza, altri fattori di rischio per GDM riportati in svariati studi includono la bassa statura materna, la malattia dell'ovaio policistico e la concomitante comparsa di insulino-resistenza, un precedente parto di feto morto, l'ipertensione arteriosa gestazionale e le gravidanze multiple [42].

B.2.1 RELAZIONE TRA GDM, DIETA E ATTIVITÀ FISICA

Alla pari dell'esercizio fisico, anche la dieta è un fattore fondamentale nell'aumentare l'incidenza o la ricorrenza del GDM. Vari studi hanno evidenziato come siano associati ad un aumentato rischio di GDM la maggiore assunzione di grassi e la minore assunzione di carboidrati, le basse concentrazioni plasmatiche di vitamina C e vitamina D all'inizio della gravidanza e la presenza di un alto carico glicemico nella dieta [42]. All'opposto, il consumo di fibre alimentari ricavate dai cereali e dalla frutta è associato in maniera significativa e inversamente proporzionale al rischio di sviluppare il GDM [42].

In aggiunta a queste correlazioni, nell'NHS-II sono stati messi a confronto due modelli dietetici, quello occidentale e il modello prudente/sano, e sono state osservate forti associazioni positive tra il primo e l'aumentato rischio di sviluppare il GDM; al contrario, il modello dietetico prudente risulta essere fondamentale nel ridurre in maniera significativa il rischio di comparsa di patologia, anche dopo aggiustamento per i principali fattori di rischio [43]. Il modello dietetico prudente è caratterizzato da un'elevata assunzione di frutta, verdure a foglia verde, pollame e pesce, mentre il modello occidentale vede un'elevata assunzione di carne rossa,

carne lavorata, prodotti a base di cereali raffinati, dolci, patatine fritte e pizza [39]. Facendo una comparazione tra i due, l'associazione tra il modello dietetico occidentale e l'aumentato rischio di sviluppare GDM è stata quindi spiegata dall'elevata assunzione di prodotti a base di carni rosse e carni lavorate da parte delle gestanti [43].

Vari studi epidemiologici hanno dimostrato che l'attività fisica contribuisce ad influenzare l'omeostasi del glucosio e i livelli glicemici in quanto provoca un aumento della sensibilità all'insulina e migliora la tolleranza al glucosio tramite meccanismi diretti ed indiretti, risultando quindi in un effetto benefico su molti aspetti delle sindromi da insulino-resistenza [42]. Inoltre, lo svolgimento di attività fisica anche di entità modesta, nel lungo termine induce degli adattamenti che influenzano profondamente la tolleranza al glucosio e potenzialmente potrebbero ridurre il rischio di comparsa di GDM [42].

Nel complesso, i risultati finora ottenuti evidenziano una relazione tra l'attività fisica svolta prima e/o durante la gravidanza e la riduzione del rischio di sviluppare il GDM, relazione che sembra rafforzarsi all'aumentare dell'intensità e del tempo dedicato all'attività fisica [39].

Pertanto, i miglioramenti nella dieta e nello stile di vita prima e durante il periodo gestazionale possono contribuire ad interrompere il circolo vizioso che coinvolge il GDM e tutte le complicanze ad esso associate [40]. I risultati delle indagini effettuate sugli effetti congiunti di dieta, attività fisica, fumo di sigaretta e BMI suggeriscono infatti che si sarebbero potuti prevenire oltre il 45% dei casi di GDM se solo le future gestanti avessero adottato una dieta e uno stile di vita complessivamente sano e mantenuto un peso corporeo entro il range di normalità prima della gravidanza [44]. Nel complesso, quindi, i risultati di molti studi osservazionali dimostrano il notevole ruolo dei fattori di rischio modificabili e dello stile di vita nel concorrere allo sviluppo di questa comune complicanza della gravidanza [44].

B.3 PATOGENESI

Durante la gravidanza fisiologica, il corpo della madre subisce una serie di cambiamenti atti a supportare le richieste del feto in crescita, a livello dei sistemi cardiovascolare, renale, ematologico, respiratorio e metabolico [45]. Un importante adattamento metabolico si verifica a livello della sensibilità materna all'insulina, la quale cambia a seconda delle esigenze della gravidanza. All'inizio del processo essa aumenta per favorire l'assorbimento del glucosio a livello delle riserve adipose ma poi, con il progredire della gestazione, si verifica un incremento degli ormoni fisiologici e placentari che insieme promuovono la creazione di uno stato di insulino-resistenza [45]. Come conseguenza, la glicemia materna aumenta e il glucosio circolante viene trasportato attraverso la placenta per alimentare la crescita del feto; vengono inoltre promosse la produzione endogena di glucosio e la lipolisi, con ulteriore incremento della concentrazione plasmatica di zuccheri e di acidi grassi liberi [45]. Al fine di mantenere l'omeostasi metabolica, la gestante compensa questi cambiamenti attraverso l'ipertrofia e l'iperplasia delle cellule β -pancreatiche e tramite l'aumento della secrezione di insulina [45].

L'insulino-resistenza e l'inadeguata secrezione ormonale giocano un ruolo centrale nella fisiopatologia del GDM in quanto si ritiene che il suo sviluppo sia ascrivibile ad una compromessa capacità di adattamento materno all'aumentata resistenza all'insulina tipica della tarda gravidanza [46]. Si ritiene quindi che il GDM sia il risultato di una disfunzione delle cellule β -pancreatiche su una condizione di insulino-resistenza cronica tipica della gestazione [45].

B.3.1 DISFUNZIONE BETA-CELLULARE

Si ritiene che la disfunzione delle cellule β -pancreatiche sia il risultato di una produzione prolungata ed eccessiva di insulina in risposta all'eccesso cronico di glucosio circolante; una volta che la disfunzione cellulare ha inizio, si avvia un circolo vizioso di iperglicemia, insulino-resistenza e ulteriore disfunzione delle cellule beta che porta alla progressiva perdita di queste ultime [45]. Il contributo diretto dato dal glucosio al fallimento della funzione β -cellulare è detto glucotossicità [47].

È anche vero però che difetti nella funzione cellulare possono verificarsi in qualsiasi fase del processo di omeostasi glucidica, coinvolgendo tappe quali la sintesi di proinsulina, le modifiche post-traduzionali, la conservazione del prodotto finale nei granuli, il rilevamento delle concentrazioni di glucosio plasmatico o il complesso meccanismo alla base dell'esocitosi dei granuli [48].

B.3.2 INSULINO-RESISTENZA CRONICA

Si pensa che molti dei fattori di rischio per il GDM esercitino parte dei loro effetti interferendo con il pathway di segnale dell'insulina; infatti, in condizioni di patologia, il tasso di assorbimento del glucosio stimolato dall'insulina è ridotto del 54% rispetto alla gravidanza fisiologica [49]. La motivazione di ciò non va ricercata nella quantità di recettore insulinico espresso a livello della membrana, la quale rimane inalterata, ma è da ricondursi alla reazione di riduzione della tirosina o all'aumento della fosforilazione di serina e treonina a livello del recettore dell'insulina stesso, che vanno a smorzare il signalling ormonale [45]. Inoltre, risultano ridotte anche l'espressione di IRS-1, la fosforilazione tirosinica di IRS-1 e le concentrazioni cellulari del trasportatore di glucosio GLUT4 [50]. Questo suggerisce che le basi molecolari dell'insulino-resistenza periferica che si sviluppa in corso di gravidanza interessino prevalentemente le tappe post-recettoriali del pathway ormonale [50].

B.3.3 RETI NEURORMONALI - LEPTINA E ADIPONECTINA

La disfunzione delle reti neurormonali è implicata nella patogenesi di tutte le malattie caratterizzate da insulino-resistenza, tra cui rientra anche il GDM. Questi networks sono costituiti da una complessa rete di stazioni centrali e periferiche con la funzione di regolare l'appetito, il dispendio energetico e il metabolismo basale, influenzando l'adiposità corporea e l'utilizzo del glucosio [45].

Tra i più importanti regolatori del controllo metabolico neurormonale vanno menzionate le adipochine, proteine di segnalazione cellulare secrete principalmente dal tessuto adiposo [45]. Le principali sono:

- Leptina: anche conosciuto come “ormone della sazietà” in quanto viene secreto in risposta alle alterazioni delle riserve energetiche e agisce a livello

dei neuroni del nucleo arcuato ipotalamico per ridurre l'appetito e aumentare il dispendio di energie [51]. Fisiologicamente durante la gravidanza si verifica lo sviluppo di resistenza alla leptina, presumibilmente per rafforzare le riserve di grasso per far fronte al periodo gestazionale ma nel GDM questo stato di leptino-resistenza è ulteriormente aumentato con conseguente sviluppo di iperleptinemia [52]. A ciò va aggiunto il fatto che anche la placenta è responsabile della secrezione dell'ormone e che questa produzione è aumentata in caso di GDM, aggravando ulteriormente lo stato di iperleptinemia [45].

- Adiponectina: ormone prodotto con la funzione di migliorare la secrezione e il signalling dell'insulina, l'ossidazione degli acidi grassi e inibire la gluconeogenesi [45]. A differenza del caso precedente, le concentrazioni plasmatiche di adiponectina sono inversamente proporzionali alla massa adiposa e in caso di GDM si assiste alla riduzione dei livelli ormonali [45]. L'adiponectina è inoltre espressa a bassa concentrazione dal sinciziotrofoblasto placentare e si è evidenziato come l'ormone vada ad alterare il signalling dell'insulina e il trasporto di aminoacidi attraverso la placenta, provocando l'insorgenza di intolleranza materna al glucosio e alterando la crescita fetale [53].

B.3.4 TESSUTO ADIPOSO

Un ruolo cruciale nella patogenesi del diabete mellito gestazionale sembra essere svolto anche dal tessuto adiposo, il quale, tramite la produzione di adiponectine è considerato un organo endocrino che regola molte funzioni biologiche e influenza l'andamento della gravidanza [54].

All'inizio della gestazione si verifica un aumento della massa di tessuto adiposo, a cui normalmente segue la mobilitazione dei grassi per alimentare la crescita fetale, ma si ritiene che entrambi i processi siano limitati in corso di GDM [55]. La condizione è inoltre associata ad una ridotta differenziazione degli adipociti e ad una ipertrofia degli stessi, accompagnata da una down-regolazione dell'espressione genica di proteine regolatrici del segnale insulinico, di trasportatori di acidi grassi e di fattori di trascrizione adipogenica [56]. La combinazione di insulino-resistenza e ridotta differenziazione degli adipociti

ostacola la capacità del tessuto di smaltire in sicurezza il glucosio in eccesso, contribuendo all'insorgenza di glucotossicità e lipotossicità a livello di organi periferici, tra cui muscoli e fegato [57]. Inoltre, il GDM è associato alla presenza di un numero maggiore di macrofagi residenti nel tessuto adiposo (ATM), i quali secernono citochine pro-infiammatorie come TNF- α , IL-6 e IL-1 β , comportando l'insorgenza di uno stato infiammatorio di basso grado che risulta essere importante nella patogenesi dell'insulino-resistenza. Queste citochine, infatti, vanno ad alterare la via di segnalazione dell'insulina e ad inibire il rilascio dell'ormone dalle cellule β pancreatiche, inducendo la comparsa dello stato di insulino-resistenza caratteristico della condizione di GDM [45].

B.3.5 STRESS OSSIDATIVO

L'ambiente iperglicemico tipico del GDM è associato ad un aumento dello stress ossidativo, il quale può portare alla comparsa di danni cellulari poiché interferisce con lo stato di proteine, lipidi e DNA [58]. È stato anche segnalato che nelle gestanti affette da GDM è presente una sovrapproduzione di radicali liberi e una alterazione dei meccanismi di scavenging degli stessi, elementi importanti nella patogenesi della malattia poiché inibiscono l'assorbimento del glucosio stimolato dall'insulina e rallentano la sintesi del glicogeno a livello di fegato e muscoli [59]. Si ipotizza inoltre che l'omocisteina contribuisca all'insorgenza di GDM per mezzo dello stress ossidativo, in quanto l'esposizione delle cellule β pancreatiche a piccole quantità dell'amminoacido provoca disfunzioni a vari livelli e riduzione della secrezione di insulina [60]. Per questo motivo, carenze e squilibri delle vitamine del gruppo B e dell'acido folico, componenti essenziali per l'omeostasi dell'omocisteina, possono contribuire alla comparsa al GDM [60].

B.4 IMPLICAZIONI PER MADRE E FETO

L'importanza di comprendere e trattare o prevenire efficacemente il diabete mellito gestazionale è mirata ad evitare l'insorgenza delle conseguenze sia per la madre che per il feto [45]. Gli esiti a breve e lungo termine sulla prole in seguito allo sviluppo della condizione sono direttamente correlati al controllo glicemico durante la gravidanza e, nonostante i recenti miglioramenti nel controllo glicemico

materno e nella riduzione della frequenza delle complicanze perinatali, la prevalenza di esiti avversi continua ad essere superiore nelle donne affette da GDM rispetto alla popolazione generale [61].

I rischi per la gestante nel breve e nel lungo termine sono svariati:

- Le donne affette da GDM sono ad alto rischio di sviluppare il diabete mellito di tipo 2 negli anni successivi al parto, anche se i dati sul rischio di progressione sono ancora limitati e poco si sa sui fattori modificabili che possano ridurre il rischio [37].
- L'associazione del GDM con uno stato preesistente di ipertensione o con un'eventuale obesità predispone queste donne allo sviluppo della sindrome metabolica [33].
- Oltre alla creazione di uno stato di stress, che generalmente insorge in qualsiasi normale gravidanza, il GDM è associato alla comparsa di depressione prenatale [62].
- Risulta esserci anche un aumentato rischio di complicanze della gestazione, tra cui parto pretermine e pre-eclampsia [63].
- Infine, prove emergenti suggeriscono che lo stato vascolare di donne con pregresso GDM risulta permanentemente alterato, predisponendole allo sviluppo di malattie cardiovascolari con un rischio del 63% maggiore rispetto alle donne con gravidanza fisiologica, parzialmente spiegato dall'aumento del BMI [64].

Parallelamente, anche i rischi per il bambino nel breve e nel lungo termine sono considerevoli:

- L' aumento del trasporto placentare di glucosio, aminoacidi e acidi grassi stimola la produzione da parte del feto di insulina e fattore di crescita insulino-simile 1, i quali possono causare la crescita eccessiva del feto stesso e risultare nella condizione nota come Large for Gestational Age (LGA), ossia di un bambino di grandi dimensioni alla nascita rispetto all'età gestazionale; spesso si arriva anche allo sviluppo di una vera e propria macrosomia fetale [65].

- L'eccessiva produzione di insulina fetale può stressare le cellule β del pancreas in via di sviluppo, contribuendo alla disfunzione delle stesse e alla comparsa di resistenza all'insulina, anche in fase prenatale [66].
- La macrosomia risulta essere anche un fattore di rischio per la distocia di spalla; pertanto, spesso si verifica la necessità di ricorrere al taglio cesareo al momento del parto [67].
- Questi bambini sono maggiormente a rischio di ipoglicemia neonatale, che si sviluppa come conseguenza dell'iperglicemia materna e dell'iperinsulinemia fetale e che può contribuire alla comparsa di lesioni cerebrali se non adeguatamente gestita [68].
- Esistono anche dati riguardo all'aumentato rischio di natimortalità GDM-correlato. A livello dell'utero si verifica un'ipossia fetale relativa che può essere alla base della natimortalità e dell'asfissia alla nascita. L'ipossia induce inoltre una maggiore produzione di eritropoietina e conseguente possibile comparsa di policitemia e iperbilirubinemia nel neonato [65].
- In alcuni casi di neonati nati da madri diabetiche è stata segnalata la presenza di ipertrofia miocardica fetale, solitamente asintomatica e transitoria, che in genere regredisce in un paio di settimane e comunque entro i sei mesi di età, ma ancora non è chiaro il suo effetto a lungo termine [65].
- L'iperinsulinemia fetale altera la sintesi di surfactante e questo predispone alla comparsa della sindrome da distress respiratorio nel neonato [65].
- Nei bimbi nati da madri affette da GDM si assiste ad una maggiore incidenza di malformazioni congenite quali: anomalie cardiache, anomalie degli arti, del tubo neurale e del sistema muscolo-scheletrico, labbro leporino, palatoschisi, e agenesia/ipoplasia renale bilaterale [65].
- A lungo termine questi bambini sono più a rischio di sviluppare obesità, diabete mellito di tipo 2, malattie cardiovascolari e malattie metaboliche associate [69]. I bambini nati da madri con GDM hanno quasi il doppio del rischio di sviluppare obesità infantile rispetto ai bimbi nati da madri non diabetiche, anche dopo aver aggiustato la stima per i vari fattori confondenti [69]. Inoltre, le figlie femmine risultano avere maggiori

probabilità di sviluppare a loro volta il GDM, contribuendo ad un circolo vizioso di patologia che si automantiene tra le generazioni della stessa famiglia [69].

- Infine, i bambini nati da madri affette da GDM possono manifestare problemi legati allo sviluppo neurologico comportamentale e motorio, con una maggiore incidenza di disturbo da deficit di attenzione e iperattività (ADHD) e disturbo dello spettro autistico [65].

Chiaramente la maggior parte delle complicanze riduce la sua incidenza e gravità con il controllo della malattia materna, in quanto frequenza e gravità di queste condizioni sono in diretta relazione con i livelli di glicemia materna, che possono essere mantenuti entro il range normale con al trattamento del GDM [65].

B.5 DIAGNOSI E LINEE GUIDA

Lo screening e la diagnosi del diabete mellito gestazionale costituiscono un argomento controverso. Nonostante siano stati sollevati alcuni dubbi sul costo-efficacia del trattamento del GDM, una serie di studi clinici ha messo in evidenza come il trattamento intensivo di questa condizione determini outcomes materni e fetali simili a quelli delle donne gravide non diabetiche, e recentemente uno studio di costo-efficacia dell'UK National Institute for Health and Clinical Excellence ha concluso che lo screening, la diagnosi ed il trattamento del GDM sono efficaci in termini di costi-benefici [70]. Nel 2010 un gruppo di lavoro convocato dall'Istituto Superiore di Sanità ha elaborato le linee guida nazionali sulla base delle prove di efficacia disponibili e alla luce delle pratiche cliniche in uso in Italia [71].

Le linee guida così elaborate sono le seguenti:

- Alla prima visita effettuata in gravidanza a tutte le donne va offerta la misurazione della glicemia plasmatica per identificare la condizione di diabete preesistente alla gravidanza. È fondamentale effettuare anche l'identificazione dei fattori di rischio per GDM [71].

I parametri per la diagnosi di diabete preesistente alla gravidanza vanno misurati su due prelievi distinti e vengono considerati patologici i valori riportati in Tab. III;

in queste gestanti deve poi essere avviato un monitoraggio glicemico intensivo [71].

Glicemia plasmatica a digiuno	≥126 mg/dL (7,0 mMol/L)
Glicemia plasmatica random	≥200 mg/dL (11,1 mMol/L)
HbA1c	≥6,5%

Tab. III Criteri per la diagnosi di diabete preesistente alla gravidanza

- Nelle donne con gravidanza fisiologica è raccomandato lo screening per il diabete gestazionale secondo i seguenti criteri:
 - Alle donne con almeno una delle seguenti condizioni, a 16-18 settimane di età gestazionale deve essere offerta una curva da carico con 75 g di glucosio (OGTT 75 g) e seguenti prelievi venosi effettuati ai tempi 0', 60', 120' per la determinazione della glicemia e un ulteriore OGTT 75 g a 28 settimane di età gestazionale se la prima determinazione dovesse risultare normale [71]:
 - Diagnosi di diabete gestazionale in una precedente gravidanza;
 - BMI pregravidico $\geq 30 \text{ kg/m}^2$;
 - Riconcontro di valori di glicemia plasmatica tra 100-125 mg/dl (5,6-6,9 mMol/l) in prossimità della gravidanza, corrispondenti alla condizione di Impaired Fasting Glucose (IFG) [71].
 - Alle donne con almeno una delle seguenti condizioni deve essere offerto un OGTT 75 g a 24-28 settimane di età gestazionale [71]:
 - età ≥ 35 anni;
 - BMI pregravidico $\geq 25 \text{ kg/m}^2$;
 - macrosomia fetale in una pregressa gravidanza;
 - diagnosi di diabete gestazionale in una gravidanza precedente;
 - familiarità di primo grado per diabete mellito;
 - etnia ad alto rischio poiché originaria da aree ad alta prevalenza di diabete quali Asia meridionale, Caraibi e Medio Oriente [71].

A seconda dei risultati ottenuti dall'OGTT 75g, vengono definite affette da GDM le pazienti con uno o più valori di glicemia plasmatica uguali o superiori alle soglie riportate in Tab. IV [71]:

Glicemia Plasmatica	mg/dL	mMol/L
Digiuno	≥ 92	≥ 5,1
Dopo 60 min	≥ 180	≥ 10
Dopo 120 min	≥ 153	≥ 8,5

Tab. IV Valori glicemici target per la diagnosi di GDM con OGTT 75 g

Le linee guida mettono anche in risalto il fatto che per lo screening del GDM non possono essere utilizzati test come la glicemia plasmatica a digiuno, le glicemie random, il glucose challenge test o minicurva, la glicosuria e l'OGTT 100 g [71]. Per la diagnosi di GDM si utilizza solo l'OGTT 75 g, la cui modalità di esecuzione è rappresentata nella Fig. 5, in quanto lo studio HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome), condotto in cieco su circa 25.000 donne provenienti da tutto il mondo, ha messo in evidenza che vi è una relazione lineare tra i livelli di glicemia registrati a digiuno e dopo 1 e 2 ore dal carico orale con 75 grammi di glucosio e l'aumento della frequenza degli outcomes avversi primari e secondari [72]. Gli outcomes primari considerati dallo studio erano: peso fetale alla nascita superiore al 90 centile, taglio cesareo primario, valori di C-peptide del cordone ombelicale superiori al 90° centile, ipoglicemia neonatale clinicamente valutata; mentre gli outcomes secondari erano: preeclampsia, parto pretermine, distocia di spalla, iperbilirubinemia e ricovero del neonato in Unità di Cura Intensiva [70].

Modalità di esecuzione

- L'OGTT deve essere eseguito al mattino, a digiuno
- Il carico glucidico va somministrato a una concentrazione del 25% (75 g di glucosio sciolti in 300 cc di acqua)
- Durante il test la donna deve rimanere seduta e astenersi dall'assunzione di alimenti e dal fumo
- Nei giorni precedenti il test, l'alimentazione deve essere libera e comprendere almeno 150 g di carboidrati/die
- Il dosaggio della glicemia deve essere effettuato su plasma, utilizzando metodi enzimatici, mentre è sconsigliato l'uso dei glucometri
- Il test da carico di glucosio non deve essere effettuato in presenza di malattie intercorrenti (influenza, stati febbrili, ecc.)

Fig.5 Modalità di esecuzione dell'OGTT 75g per la diagnosi di GDM.
Tumminia A., Milluzzo A., Sciacca L. Screening e diagnosi del GDM.
www.societaitalianadiendocrinologia.it

Nel corso degli ultimi anni, l'implementazione di tali raccomandazioni ha però mostrato alcune criticità; per migliorare l'efficienza dello screening e della diagnosi del GDM vengono perciò proposte di seguito alcune soluzioni [73]:

- Inclusione della PCOS tra i fattori di alto rischio per il GDM che richiedono l'effettuazione di un OGTT in epoca precoce di gravidanza, vista l'elevata prevalenza del GDM in donne affette da PCOS;
- Attuazione di uno screening universale, che potrebbe consentire di fare diagnosi di GDM in quelle donne a basso rischio che viceversa non sarebbero diagnosticate. Si potrebbe quindi proporre l'esecuzione dell'OGTT tra la 24° e 28° settimana di gravidanza a tutte le gestanti [73].

Le raccomandazioni sopra riportate, lungi dall'aver risolto l'annoso dibattito sulla modalità di esecuzione dello screening del GDM (universale o selettivo), hanno portato vari paesi tra cui Stati Uniti, Scozia ed Italia ad individuare metodologie di screening diverse, finalizzate in modo particolare ad aumentare la detection rate della metodica nei confronti dei casi veri-positivi per GDM e ad incrementare l'efficacia dello screening con un miglior rapporto costo-beneficio [33]. In ogni caso è fondamentale specificare che il percorso di screening e diagnosi del GDM ed il successivo monitoraggio delle donne affette da questa condizione debbano essere seguiti da un gruppo multidisciplinare che vede coinvolte diverse figure professionali, secondo protocolli di gestione condivisi [72].

B.6 TRATTAMENTO, FOLLOW-UP E PREVENZIONE

L'assistenza alla donna con gravidanza complicata da GDM è a carico di un gruppo multidisciplinare che opera con un approccio integrato e coordinato, finalizzato a migliorare la qualità delle cure e facilitare l'accessibilità ai servizi [33]. Fanno parte del trattamento le modifiche dietetiche e il monitoraggio della nutrizione, i cambiamenti nello stile di vita e la gestione dell'aumento di peso materno; è fondamentale anche insegnare alla paziente come effettuare l'automonitoraggio dei livelli di glucosio nel sangue, come compilare il diario glicemico e le modalità e il timing dei controlli glicemici [74]. In queste pazienti, al fine di ridurre le complicanze materne e fetali legate all'iperglicemia, è infatti indicato l'autocontrollo domiciliare della glicemia per valutarne il l'andamento e decidere

se e quando iniziare la terapia insulinica [75]. La frequenza dei controlli suggerita per le donne con GDM in trattamento dietetico è di 2 controlli/die ed è poi compito del medico decidere una eventuale intensificazione del monitoraggio in relazione alle singole situazioni cliniche, fino ad arrivare a 7-8 controlli/die nelle pazienti in trattamento insulinico intensivo [75]. Per quanto riguarda il timing dell'automonitoraggio quotidiano della glicemia, attualmente le raccomandazioni suggeriscono di effettuare un controllo a digiuno e l'altro un'ora dopo i pasti [75] e gli standard italiani per la cura del diabete mellito proposti nel 2018 da SID e AMD raccomandano i seguenti valori glicemici target: glicemia a digiuno <90 mg/dL e glicemia postprandiale a un'ora <130 mg/dL o glicemia postprandiale a due ore <120 mg/dL [76].

La terapia nutrizionale è fondamentale per il trattamento del GDM e circa l'80-90% delle donne è in grado di raggiungere gli obiettivi terapeutici con il solo ricorso ad essa. Generalmente si consiglia alle gestanti di consumare 3 pasti di dimensioni medio-piccole e 2 -3 spuntini bilanciati e composti da carboidrati integrali, proteine e grassi insaturi, non scendendo mai sotto le 1500 kcal/die [61]. La pianificazione dei pasti si concentra non solo sulle quantità e sulla distribuzione dei carboidrati, ma anche sul loro abbinamento con l'assunzione di proteine magre e/o grassi insaturi per ridurre il grado di escursione glicemica postprandiale indotta dagli zuccheri [61]. Inoltre, alle gestanti viene consigliato di consumare uno spuntino prima di andare a dormire per contrastare la maggiore tendenza al digiuno accelerato e alla chetosi che caratterizzano lo stato di gravidanza e che possono manifestarsi dopo un digiuno notturno prolungato (> 8 ore) [61]. In ogni caso, l'intervento dietetico va personalizzato in base alle esigenze nutrizionali, al BMI pregravidico e alle preferenze della donna e l'utilizzo di un diario alimentare può essere d'aiuto alla valutazione dell'aderenza al trattamento e dell'influenza dell'alimentazione sulla risposta glicemica [33].

A tutte le donne con GDM si consiglia anche di effettuare almeno 30 minuti di esercizio fisico aerobico di intensità moderata per 5 giorni alla settimana, in modo simile alle raccomandazioni già esistenti per le persone non gravide con diabete mellito. Qualora non ci sia la possibilità di eseguire esercizi di grado moderato, le donne possono prendere in considerazione l'effettuazione di esercizi leggeri come

passeggiare post-pasto della durata di 10-15 minuti, che hanno comunque un impatto benefico sul controllo della glicemia [74]. Le gestanti dovrebbero però evitare di effettuare attività ad alta intensità poiché queste potrebbero causare traumi addominali e di conseguenza al feto [74]. Va specificato che gli studi che valutano l'impatto glicemico dell'esercizio fisico sull'andamento del GDM sono ancora scarsi, ma tutti dimostrano come esso migliori la glicemia a digiuno e postprandiale [61].

Nel caso in cui non venga raggiunto un ottimale target glicemico con la terapia nutrizionale e l'attività fisica, risulta necessario iniziare la terapia farmacologica [33]. Il trattamento di elezione è la terapia insulinica, in quanto le tipologie di insulina utilizzate non attraversano la placenta [61]. L'iperglicemia a digiuno viene trattata con insulina basale mentre l'iperglicemia postprandiale con insulina ad azione rapida [61]. In generale, nel GDM gli schemi insulinici devono essere individualizzati e sono possibili schemi a una o più iniezioni per raggiungere l'ottimizzazione della glicemia [33]. Il fabbisogno giornaliero di insulina durante i vari trimestri di gravidanza è mostrato nella Fig. 6, basata sul fabbisogno giornaliero totale medio di insulina in gestanti con diabete mellito preesistente, anche se nella pratica clinica questo fabbisogno individuale varia in modo significativo, con alcune donne che raggiungono gli stessi obiettivi glicemici a dosi di insulina significativamente inferiori e altre che ne richiedono dosi maggiori [61].

Settimane di gestazione	Fabbisogno giornaliero totale di insulina (unità/giorno)
1-13	Peso della donna incinta in kg $\times$ 0,7
14-26	Peso della donna incinta in kg $\times$ 0,8
27-37	Peso della donna incinta in kg $\times$ 0,9
38 alla consegna	Peso della donna incinta in kg $\times$ 1,0

Fig. 6 Calcolo del fabbisogno totale giornaliero di insulina della gestante.
Da Castorino K, Paband R, Zisser H, et al. Pompe per insulina in gravidanza: utilizzare la tecnologia per raggiungere la normoglicemia nelle donne con diabete. Curr Diab Rep. 2012;12(1):53-59

Sebbene numerosi studi suggeriscano la possibilità di impiegare gli ipoglicemizzanti orali in gravidanza, quali Metformina e Gliburide, le evidenze ad

oggi disponibili e le linee guida non ne raccomandano l'uso, che deve quindi essere limitato esclusivamente a protocolli inseriti in attività di ricerca autorizzata [33].

Se non si rilevano patologie concomitanti e se il compenso glicemico della gestante risulta essere ottimale, i controlli ostetrici possono avere una frequenza mensile fino alla 36° settimana [33]. L'appuntamento con il team multidisciplinare per la verifica del compenso glicemico avviene mediamente ogni 2-3 settimane o con cadenze più ravvicinate a seconda delle situazioni [33].

Dopo il parto si procede con la sospensione dell'eventuale trattamento insulinico e con la ripresa di una dieta libera, consigliando di eseguire controlli giornalieri della glicemia per i primi 10 giorni dopo la dimissione alle donne in precedente terapia insulinica [33]. In tutti i casi è fondamentale l'esecuzione di un OGTT 75 g (tempi 0' e 120') e di una visita diabetologica a distanza di 6-12 settimane dopo il parto [33].

Al fine di migliorare la consapevolezza sull'importanza della diagnosi e del trattamento del GDM, sarebbe utile effettuare campagne di sensibilizzazione rivolte alla popolazione, che coinvolgano anche i Medici di Medicina Generale e le diverse figure degli operatori sanitari [73].

Per il GDM si può fare prevenzione. Sebbene non tutti gli eventi GDM-correlati possano essere prevenuti, gli interventi sullo stile di vita introdotti all'inizio della gravidanza o addirittura prima di essa hanno il potenziale di prevenire lo sviluppo del GDM [40]. Il periodo gestazionale o di pianificazione familiare può quindi rappresentare un'opportunità ideale per iniziare a sostenere uno stile di vita sano per tutta la famiglia, poiché le donne in queste finestre temporali della loro vita sono generalmente più motivate a seguire consigli per migliorare i risultati della gravidanza e la salute del futuro bambino [40].

C. RELAZIONE GDM-PMA

C.1 EVIDENZE ATTUALI SULLA RELAZIONE TRA GDM E PMA

I disturbi endocrini e il loro trattamento durante la gravidanza rappresentano una sfida importante per ginecologi, endocrinologi e ostetrici a causa del loro

potenziale impatto sull'andamento della gestazione stessa e sullo sviluppo fetale [77]. Con l'ascesa delle tecniche di riproduzione assistita, il numero di gravidanze complicate da queste condizioni, tra cui spicca il diabete gestazionale, è aumentato, ma il correlato aumento del rischio di complicanze materne e fetali può essere ridotto grazie ad una adeguata gestione e osservazione clinica [77].

Negli anni sono stati svolti studi e metanalisi che hanno dimostrato un'aumentata incidenza di GDM nelle gravidanze concepite tramite tecniche di PMA:

- Uno studio di coorte retrospettivo ha evidenziato che le donne con gravidanza insorta dopo ART hanno una probabilità di sviluppare diabete mellito gestazionale 1,99 volte maggiore rispetto ai controlli, rappresentati da gestanti con gravidanza insorta naturalmente. Lo studio specifica anche che il contributo maggiore nel determinare questo rischio complessivo è dato dalle gravidanze singole insorte dopo PMA, alle quali è collegato un odds ratio (OR) di 2,23 (CI 95% 1,85-2,69), mentre non risulta alcuna differenza statisticamente significativa nell'incidenza di questa complicanza tra le gravidanze gemellari [78].
- Una metanalisi condotta su sei studi di coorte e complessivamente su 13.399 donne con gravidanza singola insorta dopo IVF o ICSI, ha evidenziato che il rischio di sviluppare GDM è 1,48 volte maggiore rispetto alle donne con gravidanza insorta naturalmente (IC 95% 1,33-1,66) [79].
- Uno studio trasversale effettuato su 215 gravidanze singole ottenute con fecondazione naturale e 145 gravidanze singole ottenute con ART tramite tecniche di IVF, ICSI e IUI, ha evidenziato che l'incidenza di GDM tra le gravidanze ottenute tramite tecniche di PMA è del 43% più alta rispetto alle gravidanze insorte con fecondazione naturale [80]. Lo studio è stato condotto escludendo tutte le pazienti portatrici di condizioni confondenti, tra cui PCOS, età materna ≥ 40 anni, diabete preesistente alla gravidanza, precedente GDM, familiarità di primo grado per diabete, precedente parto di neonato macrosomico, storia di natimortalità, ricorrente aborto spontaneo, sindrome di Cushing, iperplasia surrenalica congenita e ipotiroidismo [80]. Lo studio ha anche valutato la gravità del GDM tra i due gruppi, usando come parametro la necessità o meno di terapia insulinica.

Quest'ultima è stata iniziata nel 20% delle donne con GDM in gravidanza insorta spontaneamente, nel 24% delle donne con gravidanza insorta con VF/ICSI e nel 23% di quelle con gravidanza insorta dopo IUI, indicando che non vi è alcuna differenza statisticamente significativa nella gravità del GDM tra i vari gruppi [80].

- Uno studio retrospettivo effettuato su 345 gravidanze gemellari dicoriali diamniotiche di cui 207 concepite spontaneamente e 138 concepite tramite tecniche di PMA, ha evidenziato che il rischio di sviluppare GDM è leggermente maggiore nelle donne sottoposte a procedure ART, con un odds ratio pari a 1,12; se però il dato viene aggiustato per l'età materna e la parità, esso perde di significato a livello statistico [81].
- Al contrario, una metanalisi effettuata su trentanove studi di coorte relativi alle complicanze ostetriche delle gravidanze gemellari ottenute tramite tecniche di IVF/ICSI e quelle ottenute con procreazione naturale, ha evidenziato che le prime sono associate ad un aumentato rischio di GDM con un rischio relativo di 1,78 (IC95% 1,25-2,55) [82]. Nonostante queste evidenze, non è ancora chiaro se le gravidanze gemellari ottenute dopo ART debbano essere considerate a rischio ostetrico più elevato rispetto a quelle ottenute naturalmente perché i risultati degli studi sono spesso incoerenti, come dimostra il fatto che nel primo e nel quarto studio qui riportati le conclusioni ottenute sono l'opposto di quanto appena riportato [82].

Questi dati suggeriscono una maggiore incidenza di GDM nelle gravidanze concepite tramite l'uso di tecniche di procreazione medicalmente assistita. L'aumento del rischio può essere in parte spiegato dal fatto che le donne sottoposte ad ART tendono ad avere un'età maggiore al momento della gravidanza e sono quindi a più alto rischio di sviluppare GDM anche per l'età [28]. Altri studi suggeriscono invece che la diagnosi di infertilità possa conferire già di per sé un aumentato rischio di sviluppare GDM [83]. La maggior parte delle donne con infertilità presenta infatti molti fattori di rischio per GDM, come la resistenza all'insulina e la PCOS e, a seguito dell'effettuazione delle tecniche di riproduzione assistita, il GDM si sviluppa nel 65% delle donne con insulino-resistenza e nel 60%

di quelle con PCOS [84]. Tuttavia, anche dopo aver controllato i principali fattori confondenti, permane un'associazione significativa tra tecniche di PMA e GDM, il che indica che anche le stesse procedure ART contribuiscono alla comparsa di alterazioni a livello molecolare che predispongono allo sviluppo di diabete mellito gestazionale [28].

Indipendentemente dall'età e della parità, il più alto tasso di GDM tra le gestanti sottoposte a PMA può essere dovuto anche a [85]:

- Eziologia dell'infertilità;
- Farmaci per l'induzione dell'ovulazione e il supporto della fase luteale;
- Modifiche nell'ambiente ormonale per l'aumento dei livelli di specifici ormoni dopo l'induzione dell'ovulazione e durante l'inizio della gravidanza;
- Presenza di fattori predisponenti metabolici e vascolari sottostanti che vengono esacerbati durante l'induzione dell'ovulazione e le procedure di IVF/ICSI [85].

Il numero crescente di gravidanze ottenute tramite tecniche di PMA e la maggiore consapevolezza della morbidità GDM-correlata ha portato alla ricerca delle possibili differenze di esito del diabete mellito gestazionale nelle gravidanze ottenute con ART e in quelle con fecondazione spontanea [86].

Uno studio di coorte prospettico effettuato su 236 donne con GDM con lo scopo di indagare il ruolo delle tecniche di PMA nell'aumentare il rischio di ricorso alla terapia insulinica, ha messo in luce che nelle gravidanze ottenute tramite ART c'è un tasso più alto di utilizzo di terapia insulinica rispetto alle gravidanze ottenute spontaneamente [87]. È interessante notare che la modalità di concepimento tramite PMA è stata identificata come un fattore prognostico indipendente nel predire il fabbisogno di insulina nelle donne con GDM, anche dopo l'aggiustamento per gli altri fattori confondenti, con un odds ratio pari a 2,94 (IC95% 1,24-6,96). Si può quindi concludere che il trattamento dell'infertilità mediante le tecnologie di riproduzione assistita può essere un possibile fattore predittivo per il ricorso alla terapia insulinica nelle donne con GDM [87], anche se questo non è confermato da tutti gli studi.

Recentemente è stata valutata anche l'associazione tra ricorso alle tecniche di PMA, obesità e sviluppo di GDM. Le prove attuali dimostrano che l'obesità ha un effetto negativo sulla salute riproduttiva femminile, contribuendo alla comparsa di problemi di infertilità e dando risultati peggiori nel trattamento dell'infertilità in quanto si associa ad una ridotta risposta ovarica al trattamento di IVF, a un tasso più basso di fecondazione degli ovociti, ad una scarsa qualità dell'embrione e a tassi di aborto più elevati [88]. Uno studio caso-controllo nidificato ha anche dimostrato che le donne in sovrappeso/obese sottoposte alle procedure ART hanno un aumentato rischio di sviluppare GDM rispettivamente di circa 3 e 5 volte rispetto alle gestanti normopeso sottoposte a PMA, concludendo che le donne con un BMI ≥ 25 sono da considerare ad alto rischio di sviluppo di GDM dopo ART [89]. Pertanto, dato che il BMI pregravidico è un predittore indipendente dello sviluppo di GDM nelle donne in gravidanza concepite tramite ART, gli operatori sanitari dovrebbero porre particolare attenzione alla condizione di sovrappeso/obesità per indirizzare le tempistiche dello screening per il GDM nelle donne che fanno ricorso alle tecniche di PMA [89].

La diagnosi precoce di GDM insorto a seguito di ART permette il tempestivo inizio del trattamento, con il fine di ridurre il rischio di comparsa di gravi anomalie morfologiche del feto, come malformazioni cardiache e cerebrali, e di diminuire la percentuale di esiti avversi fetali e neonatali [90]. La salute del bambino potrebbe essere ulteriormente rafforzata includendo l'ART come fattore di rischio per GDM direttamente nelle linee guida; ciò implicherebbe il ricorso allo screening precoce per il GDM nelle donne che si sono sottoposte a PMA e permetterebbe un eventuale trattamento tempestivo della condizione, riducendone le conseguenze [90].

Inoltre, l'adozione di uno stile di vita sano prima e durante il periodo gestazionale risulta essere un prerequisito essenziale per ottenere una gravidanza normale, riducendo il rischio di comparsa di GDM [91]. In generale, il periodo pre-concepimento è ampiamente trascurato, mentre rappresenta un'opportunità per identificare e modificare i rischi clinici e comportamentali, in particolare nelle donne infertili, a maggior ragione se sono presenti ulteriori fattori di rischio per lo sviluppo di GDM [92]. È quindi importante, per il futuro, aumentare la

consapevolezza dei medici in merito a questo argomento e promuovere un approccio pre-concezionale più ampio nelle donne infertili, che vada anche al di là della sola salute riproduttiva [92]. Prima del trattamento dell'infertilità, la correzione e la gestione dei fattori di rischio modificabili e non modificabili per tutta una serie di altre complicanze, tra cui rientra il GDM, sono imperative e rappresentano l'obiettivo principale per una gravidanza sicura e per la salute della donna per il resto della vita [92].

3. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo dello studio è valutare gli outcomes materni e neonatali delle gravidanze complicate da diabete gestazionale insorte con procreazione medicalmente assistita rispetto alle gravidanze insorte con fecondazione naturale in una popolazione di donne comparabile per età e BMI.

4. MATERIALI E METODI

4.1 POPOLAZIONE STUDIATA

La popolazione oggetto di studio è stata reclutata tra le gestanti seguite dagli ambulatori dedicati alla gestione della gravidanza diabetica dell'U.O. di Diabetologia dell'ULSS 6 Euganea di Padova nel periodo 2010-2022.

Sono state arruolate retrospettivamente tutte le gestanti con anamnesi positiva per modalità di fecondazione tramite PMA, includendo solo pazienti con diagnosi di GDM ed arrivando ad un gruppo finale composto da 229 gravide.

Questo gruppo di pazienti è stato messo a confronto con un gruppo di controllo composto da 441 gestanti con gravidanza complicata da GDM ma insorta con fecondazione naturale. Le componenti del gruppo di controllo sono state selezionate in base a peculiari caratteristiche in quanto ogni donna con gravidanza insorta tramite PMA è stata messa a confronto con due donne con gravidanza insorta naturalmente che presentassero simile età di concepimento, BMI pregravidico ed anno del parto. Per 10 pazienti del gruppo dei casi non si è però riusciti a trovare i corrispondenti controlli, in quanto presentanti un'età di concepimento troppo elevata rispetto alle donne con fecondazione naturale.

Il Database finale risulta quindi composto da 670 pazienti totali, di cui 229 casi e 441 controlli ed è stata infine condotta un'analisi statistica di tipo osservazionale e descrittiva.

Tutte le procedure sono state approvate dal Comitato Etico ed hanno seguito gli standard etici della dichiarazione di Helsinki del 1975, rivisti nel 2008.

I dati sono stati registrati utilizzando fogli di calcolo Excel di Microsoft Excel 2016 ed elaborati mediante il programma statistico "IBM SPSS statistics 27".

4.2 METODI

Le gestanti oggetto del presente studio hanno ricevuto una diagnosi di GDM mediante esecuzione di OGTT con 75g di glucosio. Come da Linee Guida Ministeriali, quest'ultimo è stato eseguito tra la 16°-18° settimana gestazionale per le pazienti ad alto rischio, cioè quelle con diagnosi di GDM in una precedente gravidanza, BMI pregravidico ≥ 30 kg/m² o diagnosi di Impaired Fasting Glucose

(IFG), e tra la 24°-28° settimana gestazionale per le gravide con età ≥ 35 anni, BMI pregravidico ≥ 25 kg/m², pregressa macrosomia fetale, diagnosi di GDM in una gravidanza precedente, familiarità di primo grado per diabete mellito o etnia ad alto rischio (originaria da Asia meridionale, Caraibi e Medio Oriente).

Nel corso della prima visita sono stati raccolti i dati anagrafici ed antropometrici della donne, comprendenti età, peso, altezza e BMI pregravidico; è stata poi eseguita un'attenta anamnesi fisiologica, familiare, patologica remota, patologica prossima, farmacologica ed ostetrica e, per concludere, sono stati raccolti i dati relativi alla gravidanza, ossia il tipo di fecondazione, la data dell'ultima mestruazione, la settimana gestazionale in corso e il decorso e gli esiti di eventuali precedenti gravidanze.

Le pazienti sono state inviate a colloquio dietetico per l'elaborazione di uno schema alimentare frazionato ed adeguato per apporto di calorie e nutrienti, come da raccomandazioni delle società scientifiche e tale da permettere un ottimale controllo glicemico. In caso di mancato raggiungimento di quest'ultimo, ad ogni controllo la dietista provvedeva alla modifica dello schema dietetico. In caso di impossibilità a raggiungere gli obiettivi glicemici con la sola terapia medica nutrizionale, veniva associata la terapia insulinica.

Ogni donna è stata educata all'esecuzione dell'autocontrollo glicemico domiciliare; esso prevede 2 misurazioni/die secondo uno schema a scacchiera in caso di solo trattamento dietetico mentre le misurazioni aumentano a 4/die in caso di terapia insulinica, di cui 1 misurazione va effettuata a digiuno e le restanti 3 vanno effettuate un'ora dopo i pasti. I valori delle glicemie venivano registrati in un diario ed accompagnati da annotazioni quando non erano a target, per essere portati in visione ai controlli ambulatoriali e valutati da parte del medico.

L'adeguatezza del controllo metabolico e della crescita fetale è stata valutata mediante controlli ambulatoriali effettuati a distanza di 2-4 settimane, in base alla terapia e al grado di controllo glicemico.

Durante le visite di controllo sono stati valutati parametri quali peso, pressione arteriosa, glicemia e gli esami ematochimici portati in visione dalla paziente comprendenti emocromo, emoglobina glicata, profilo lipidico e microalbuminuria; sono stati registrati anche i dati ecografici relativi alla crescita fetale, l'andamento

delle eventuali comorbidità materne e il controllo delle altre possibili complicanze legate alla gravidanza quali disturbi ipertensivi e preeclampsia.

A distanza di 8-12 settimane dal parto, le pazienti sono state rivalutate in ambulatorio per l'analisi dei valori glicemici ottenuti all'OGTT con 75g di glucosio (0', 30', 60', 120'), dell'insulinemia (0', 30', 60', 120') e dell'assetto lipidico. In base al risultato ottenuto alla curva da carico le pazienti sono state riclassificate in Normal Glucose Tolerance (NGT) in caso di ritorno al fisiologico metabolismo glucidico, o in Altered Glucose Tolerance (AGT) in caso di permanenza di un alterato metabolismo glucidico.

Durante il follow-up sono stati raccolti anche i dati relativi all'outcome della gravidanza, quali settimana gestazionale e modalità del parto; sono stati poi raccolti i dati relativi al bambino quali sesso, peso, lunghezza ed è stato calcolato il Ponderal Index (PI), ottenuto con la formula di Rohrer: $PI = \frac{\text{peso}(g)}{\text{altezza}(cm)^3} \times 100$.

È stata registrata l'eventuale comparsa di complicanze perinatali quali ipoglicemia, iperbilirubinemia, distress respiratorio, morbidità fetale e malformazioni, e anche di quelle materne, ad esempio emorragie e lacerazioni perineali.

Inoltre, in base ai percentili di crescita per l'età gestazionale e il sesso ricavati dalle carte INeS, i neonati sono stati classificati in Adequate for Gestational Age (AGA) in caso di peso alla nascita compreso tra il 10° e il 90° percentile, in Large for Gestational Age (LGA) in caso di peso alla nascita maggiore del 90° percentile o in Small for Gestational Age (SGA) in caso di peso alla nascita inferiore al 10° percentile. Infine, particolare attenzione è stata posta alla presenza o meno di macrosomia, definita da un peso alla nascita > 4000g.

4.3 ANALISI STATISTICA

I dati non parametrici sono stati espressi come percentuali ed analizzati tramite il test chi quadrato " χ^2 ".

I dati parametrici, invece, sono stati espressi come media $\pm$ deviazione standard ed analizzati tramite il test t di Student.

Una $p \leq 0,05$ è stata considerata statisticamente significativa.

5. RISULTATI

Nello studio sono state valutate 670 donne con diagnosi di diabete gestazionale, 229 con gravidanza insorta grazie all'ausilio di tecniche di procreazione medicalmente assistita e 441 con gravidanza insorta naturalmente.

Le caratteristiche clinico-metaboliche di tutte le pazienti analizzate sono riportate in Tab. V.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 229)	FEC. NATURALE (n° = 441)	P
Età (anni)	37,9 ± 4,8	37,6 ± 4,3	0,447
BMI (kg/m²)	24,6 ± 5,0	24,4 ± 5,0	0,635
1° glicemia (mg/dl)	86,2 ± 12,5	88,1 ± 10,7	0,046 ★
HbA1 alla diagnosi (%)	5,15 ± 0,4	5,21 ± 0,4	0,103
HbA1 3° trimestre (%)	5,24 ± 0,4	5,31 ± 0,4	0,028 ★
Diagnosi con OGTT (%)	96,1%	98,9%	0,095
OGTT diagnostico (sg)	23,5 ± 4,0	23,7 ± 4,2	0,624
OGTT diagnostico T (%)	80,9%	74,4%	0,142
Parto gemellare (%)	16,2%	2,5%	<0,001 ★
Nazionalità straniera (%)	16,6%	21,5%	0,227

Tab. V Parametri clinico-metabolici della popolazione in studio

I due gruppi sono comparabili per età e BMI pre-gestazionale, come da criteri di selezione.

Per quanto concerne l'etnia, un numero inferiore di donne immigrate ha intrapreso un percorso di PMA, probabilmente per questioni di natura culturale ed economica, ma il dato non risulta statisticamente significativo.

Per quel che riguarda il valore della prima glicemia, le donne del gruppo di controllo registrano valori significativamente superiori.

Lo stesso accade per l'HbA1c misurata al terzo trimestre in quanto le donne del gruppo di controllo presentano un valore significativamente più elevato; quest'ultimo però potrebbe essere ricondotto alla maggiore presenza di donne straniere, le quali generalmente presentano valori di HbA1c più elevati sia per una minore aderenza alla terapia nutrizionale sia per la maggiore presenza di varianti emoglobiniche che possono inficiare il dato.

Per quanto concerne la modalità di diagnosi, un numero minore di donne sottoposte a procreazione assistita ha ricevuto diagnosi di GDM tramite l'esecuzione dell'OGTT 75g rispetto al gruppo di controllo, anche se il dato non è statisticamente significativo.

Anche la settimana gestazionale in cui è stato eseguito l'OGTT diagnostico è risultata sovrapponibile fra i due gruppi.

Per quanto riguarda il numero di pazienti che ha ricevuto diagnosi di GDM tramite l'OGTT 75g tardivo (a 24-28 sg), una percentuale minore di donne con fecondazione naturale ha ricevuto la diagnosi tardivamente, probabilmente per la maggior prevalenza di pregresso-GDM in questo gruppo di donne, fattore di rischio che comporta la necessità di eseguire l'OGTT 75g precocemente (a 16-18 sg); in ogni caso, il dato non è statisticamente significativo.

Per quel che riguarda il numero di figli concepiti, una percentuale significativamente superiore di donne sottoposte a procreazione assistita ha intrapreso una gravidanza gemellare. Suddividendo il periodo oggetto di studio in due parti (2010-2016 e 2017-2022), le gravidanze gemellari si sono verificate prevalentemente nella prima parte di esso, probabilmente per un diverso approccio ginecologico alla PMA.

La distribuzione per classi di BMI non ha evidenziato alcuna differenza statisticamente significativa fra i due gruppi, in accordo con i criteri di selezione dei controlli, Fig. 7.

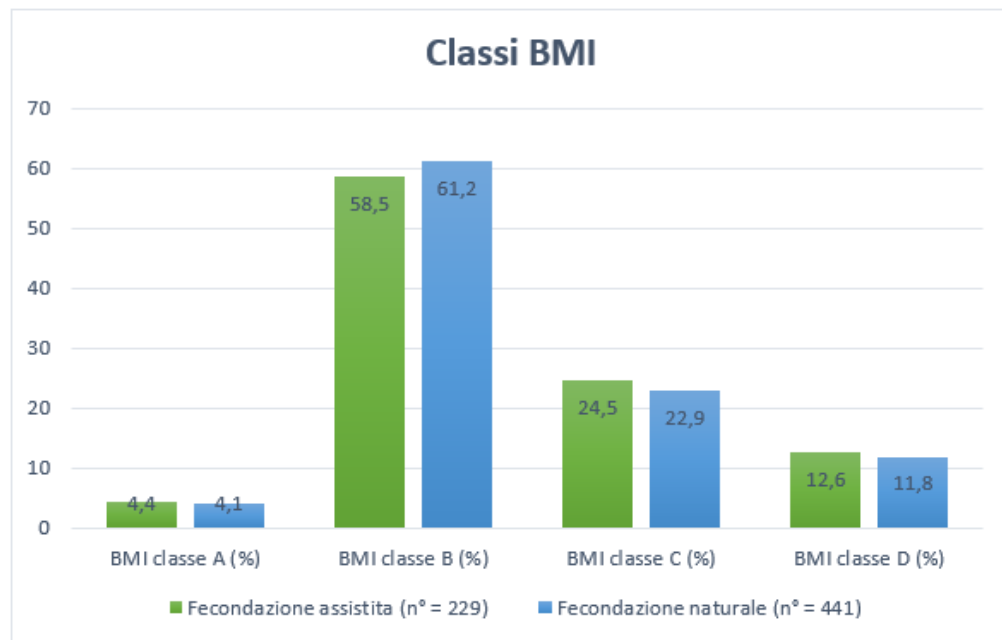


Fig. 7 Classi di BMI della popolazione in studio

L'incremento ponderale delle gestanti è stato calcolato separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari, Tab. VI.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 229)	FEC. NATURALE (n° = 441)	P
Incremento ponderale gravidanza singola (kg)	10,6 ± 4,5	9,7 ± 4,6	0,053
Incremento ponderale gravidanza gemellare (kg)	13,0 ± 5,0	14,1 ± 5,5	0,566

Tab. VI Incremento ponderale diviso per gravidanza singola e gemellare

Entrambi i dati non sono statisticamente significativi, anche se l'incremento ponderale registrato dalle donne sottoposte a procreazione assistita e con gravidanza singola risulta più elevato e sfiora la significatività.

Per quel che riguarda la divisione in classi dell'incremento ponderale durante la gravidanza, il dato è stato calcolato separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari in quanto i range di riferimento raccomandati dallo IOM (Institute Of Medicine) sono diversi.

In entrambi i casi, dai dati non emergono differenze statisticamente significative in quanto le percentuali di donne con incremento ponderale insufficiente, adeguato ed eccessivo sono simili fra i due gruppi, Fig. 8 e Fig. 9.

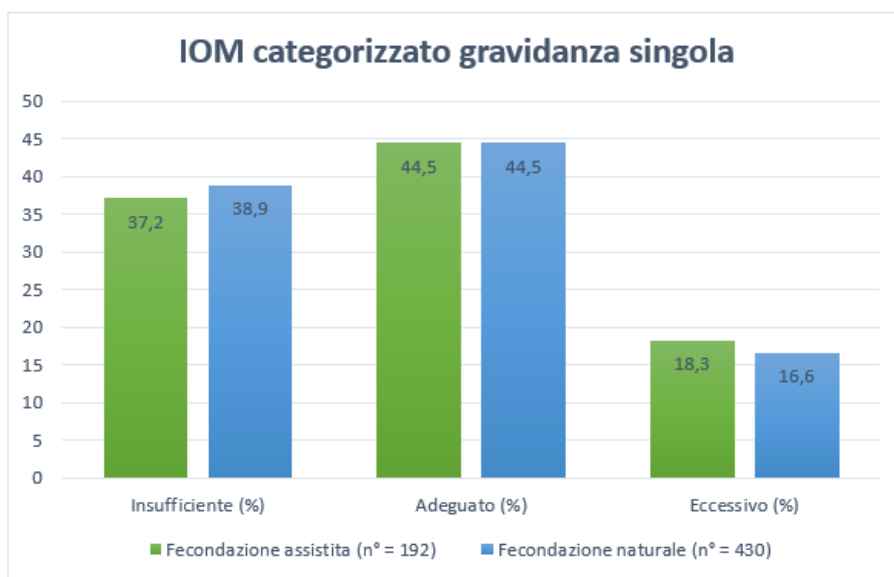


Fig. 8 Raccomandazioni IOM categorizzate per le gravidanze singole

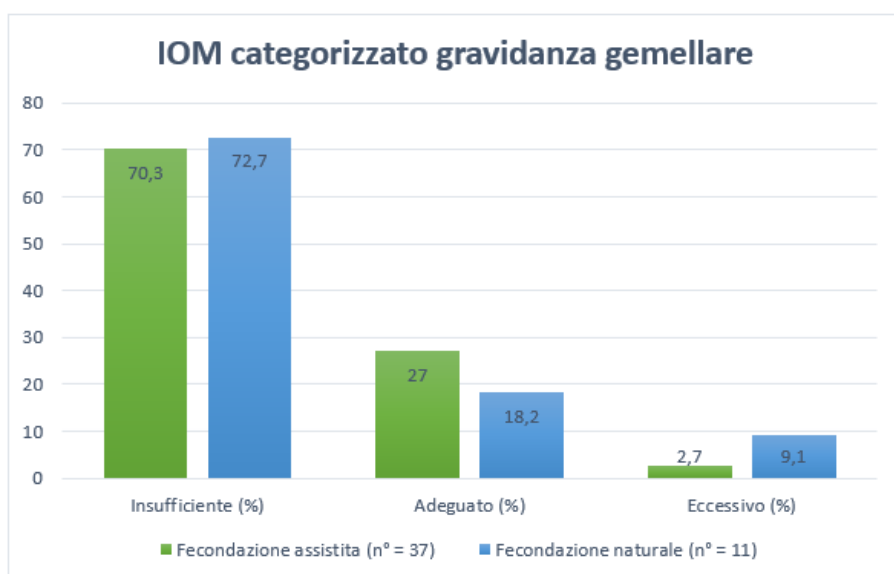


Fig. 9 Raccomandazioni IOM categorizzate per le gravidanze gemellari

Per quanto concerne i fattori di rischio per GDM, si segnala una frequenza significativamente maggiore di pregresso GDM nelle donne con gravidanza insorta naturalmente.

Per gli altri fattori di rischio, invece, non risultano differenze statisticamente significative fra i due gruppi, Fig. 10.

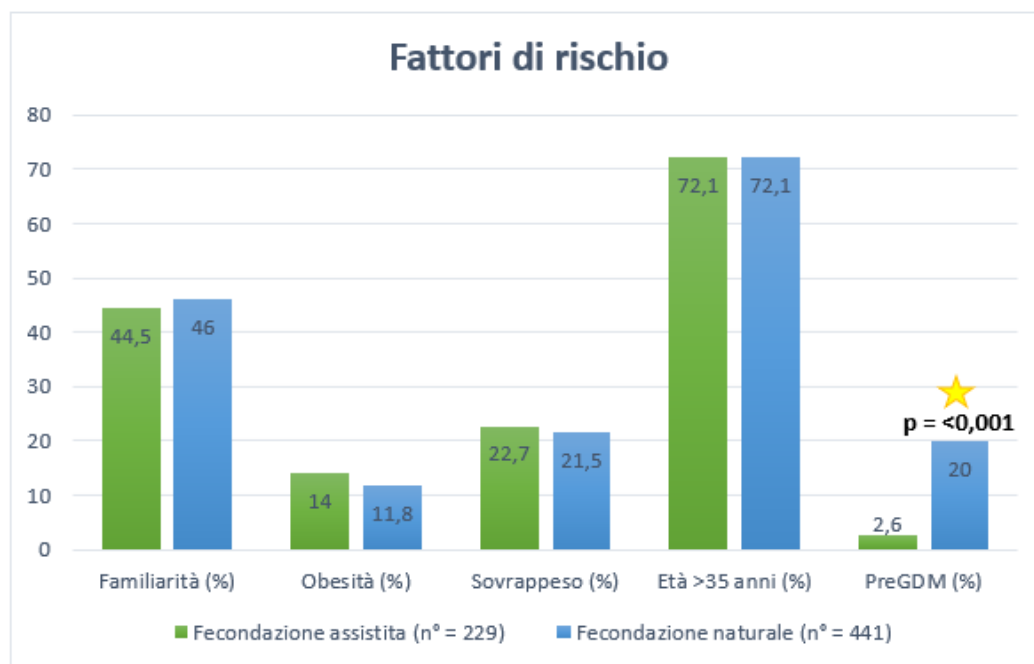


Fig. 10 Fattori di rischio per GDM della popolazione in studio

Per quel che riguarda i valori di glicemia rilevati durante lo screening per GDM eseguito tramite OGTT 75g, non si rilevano differenze statisticamente significative al tempo 60'.

Al contrario, al tempo 0' le donne sottoposte a procreazione assistita presentano valori di glicemia significativamente inferiori rispetto al gruppo di controllo, mentre al tempo 120' queste stesse donne presentano valori glicemici significativamente superiori rispetto a quelli registrati fra le donne con fecondazione naturale, Fig. 11.

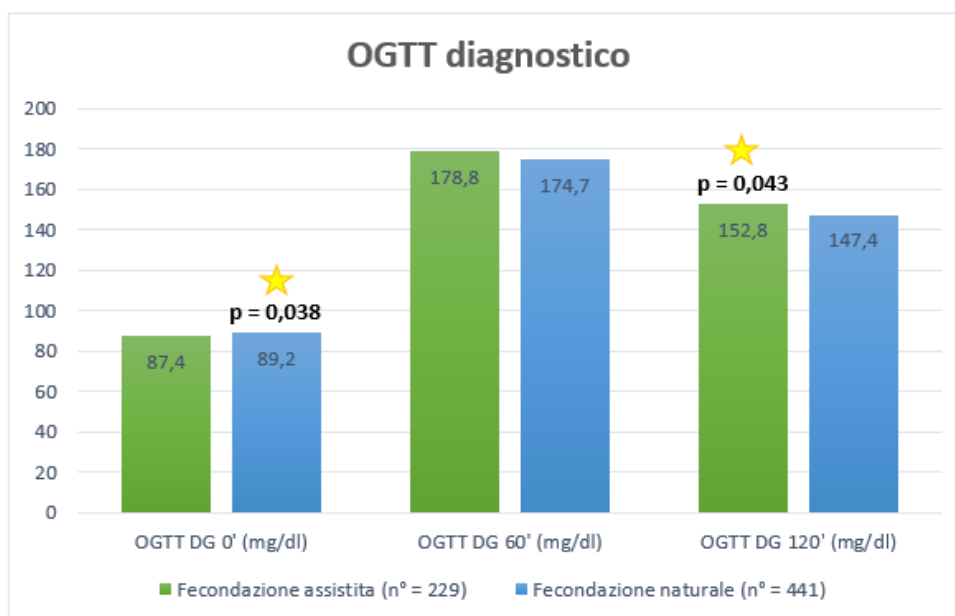


Fig. 11 Valori OGTT diagnostico della popolazione in studio

Infine, per quanto concerne il profilo lipidico delle gestanti alla diagnosi, il gruppo delle donne sottoposte a PMA ha mostrato valori di colesterolo totale, LDL e trigliceridi significativamente maggiore rispetto al gruppo di controllo, mentre i valori della HDL risultano del tutto sovrapponibili, Fig. 12.

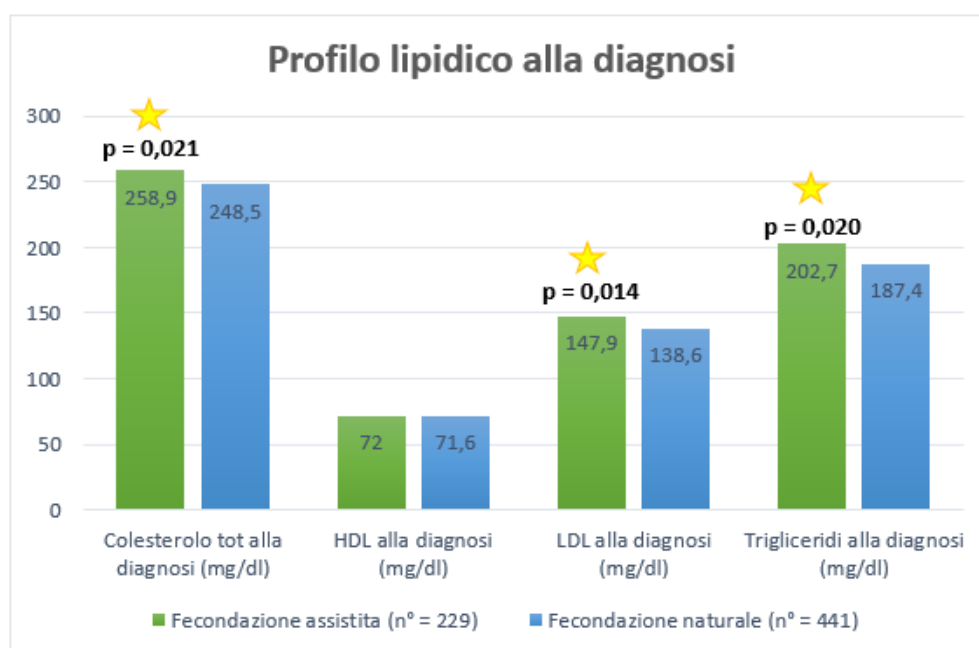


Fig. 12 Profilo lipidico alla diagnosi nella popolazione in studio

Nel periodo preparto, gli stessi parametri mostrano un profilo lipidico simile fra i due gruppi, Fig.13.

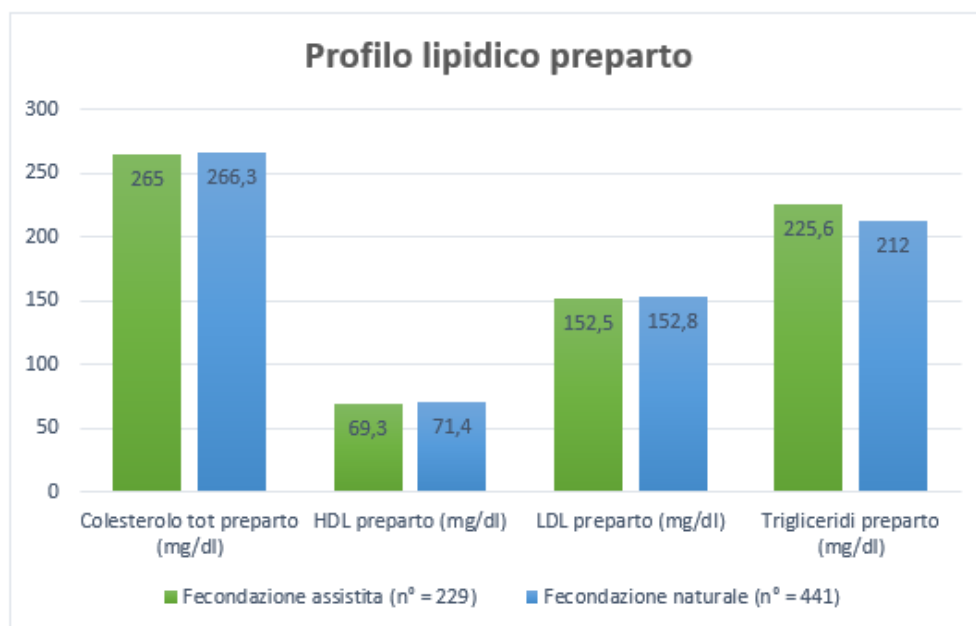


Fig. 13 Profilo lipidico preparto della popolazione in studio

L'outcome materno di tutte le pazienti oggetto di studio è riportato in Tab. VII.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 229)	FEC. NATURALE (n° = 441)	P
Terapia insulinica (%)	24,5%	24,5%	0,992
Gest-IPTS (%)	3,9%	5,4%	0,391
Eclampsia (%)	0%	0%	
Pre-eclampsia (%)	2,2%	0,9%	0,173
Tireopatia (%)	21,4%	14,3%	0,008 ★
Tornata al follow-up (%)	57,4%	62,5%	0,188
AGT (%)	11,7%	17,8%	0,074

Tab. VII Outcome materno

Per quanto riguarda l'insorgenza di ipertensione gestazionale, preeclampsia ed eclampsia non si rilevano differenze statisticamente significative fra i due gruppi. Anche la percentuale di pazienti che ha necessitato di terapia insulinica risulta del tutto simile fra le donne con gravidanza insorta tramite PMA e quelle con gravidanza insorta naturalmente, in quanto dai dati analizzati non si rilevano differenze statisticamente significative.

Al contrario, le donne sottoposte a procreazione assistita hanno presentato patologie tiroidee con una frequenza significativamente più elevata rispetto al gruppo di controllo.

Infine, la percentuale di pazienti tornate a follow-up dopo il parto non è significativamente diversa fra i due gruppi. Le donne sono anche state riclassificate in base ai valori riscontrati all'OGTT post-parto, da cui si evidenzia una percentuale inferiore di donne sottoposte a PMA con diagnosi di alterata tolleranza glucidica post-parto (AGT), ma il dato non è statisticamente significativo.

I dati inerenti al parto, settimana gestazionale e tipologia di parto, sono stati analizzati separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari.

Per quanto riguarda le gravidanze singole, le pazienti sottoposte a PMA hanno partorito significativamente prima e con una percentuale significativamente maggiore di parto cesareo rispetto alle donne del gruppo di controllo, Tab. VIII.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 192)	FEC. NATURALE (n° = 430)	P
Settimana gestazionale del parto arrotondata (sg)	38,5 ± 1,9	38,8 ± 1,6	0,047 ★
Aborto (%)	0,7%	0%	0,422
Parto cesareo (%)	50,3%	41,2%	0,038 ★
Parto indotto (%)	12,4%	14,6%	0,544
Parto spontaneo (%)	36,6%	44,2%	0,092

Tab. VIII Dati del parto delle gravidanze singole

Nelle gravidanze gemellari, invece, non si rilevano differenze statisticamente significative sia per quanto riguarda la settimana gestazionale sia per la modalità di parto. Questo è probabilmente dovuto alla scarsa numerosità di pazienti analizzate, anche se le donne sottoposte a PMA in media hanno partorito prima rispetto alle pazienti del gruppo di controllo e con una percentuale maggiore di parto cesareo, Tab. IX.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 37)	FEC. NATURALE (n° = 11)	P
Settimana gestazionale del parto arrotondata (sg)	35,5 ± 2,5	37,2 ± 1,3	0,118
Parto cesareo (%)	87,9%	83,3%	0,911
Parto spontaneo (%)	12,1%	16,7%	0,911

Tab. IX Dati del parto delle gravidanze gemellari

L'outcome neonatale di tutti i bambini analizzati è riportato in Tab. X.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 229)	FEC. NATURALE (n° = 441)	P
Macrosomia (≥4000g) (%)	1,7%	4,3%	0,084
Ipoglicemia (%)	3,1%	2,0%	0,414
Iperbilirubinemia (%)	2,6%	2,5%	0,922
Distress respiratorio (%)	1,7%	0,7%	0,198
Morbosità fetale (%)	3,5%	3,6%	0,929
Malformazioni (%)	0,9%	1,4%	0,582

Tab. X Outcome neonatale

Per tutti i parametri riportati in tabella, i dati ottenuti dai due gruppi risultano comparabili. L'unica differenza, anche se non statisticamente significativa, riguarda la percentuale di neonati macrosomici (peso alla nascita >4000g), che risulta maggiore nel gruppo di controllo.

I dati riguardanti il peso alla nascita e il PI (Ponderal Index) dei bambini sono stati analizzati separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari, dato che in queste ultime il peso dei bambini è risaputo essere minore.

Per quanto concerne le gravidanze singole, non si sono evidenziate differenze statisticamente significative fra i due gruppi in quanto i dati sul peso dei bambini alla nascita e il PI risultano del tutto sovrapponibili, Tab. XI.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 192)	FEC. NATURALE (n° = 430)	P
Peso bambino (g)	3236,8 ± 522,6	3257 ± 478,3	0,678
PI (g/cm³)	2,74 ± 0,3	2,74 ± 0,4	0,915

Tab. XI Dati dei bambini nati da gravidanze singole

Per quanto riguarda le gravidanze gemellari, invece, per il primo gemello non si rilevano differenze statisticamente significative nei parametri analizzati, anche se il peso alla nascita del primo gemello concepito tramite PMA risulta minore.

Similmente, il secondo gemello presenta un PI comparabile fra i due gruppi mentre si evidenzia un peso alla nascita del secondo gemello significativamente inferiore nelle donne con gravidanza insorta tramite PMA, Tab. XII.

PARAMETRO	FEC. ASSISTITA (n° = 37)	FEC. NATURALE (n° = 11)	P
Peso 1° gemello (g)	2328,3 ± 583,3	2717,5 ± 246,2	0,121
PI 1° gemello (g/cm³)	2,60 ± 0,6	2,41 ± 0,3	0,480
Peso 2° gemello (g)	2267,8 ± 536,6	2821,7 ± 296,9	0,021 ★
PI 2° gemello (g/cm³)	2,54 ± 0,3	2,50 ± 0,3	0,792

Tab. XII Dati dei bambini nati da gravidanze gemellari

L'ultimo parametro valutato è la distribuzione dei neonati in Large for Gestational Age (LGA), Adapt for Gestational Age (AGA) e Small for Gestational Age (SGA), analizzato separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari.

Per quanto riguarda le gravidanze singole, non si rilevano differenze statisticamente significative fra i due gruppi di donne studiate, Fig. 14.

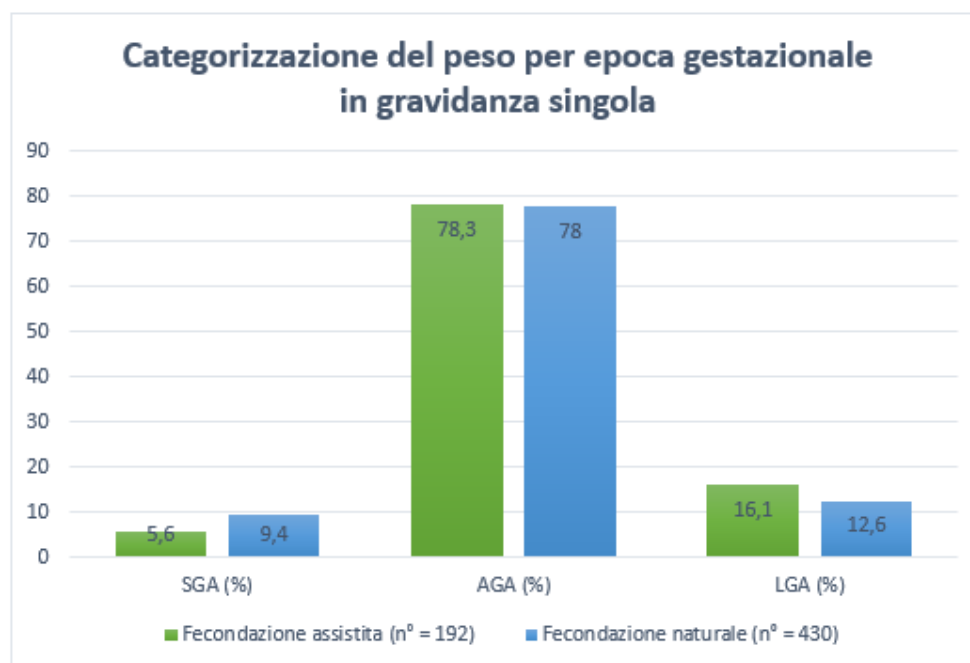


Fig. 14 Categorizzazione del peso per epoca gestazionale in gravidanze singole

Stesso risultato si ottiene per le gravidanze gemellari in quanto la distribuzione dei bambini in LGA, AGA e SGA è del tutto sovrapponibile fra i due gruppi, non presentando quindi differenze statisticamente significative sia per quando riguarda il primo gemello sia per il secondo, Fig. 15.

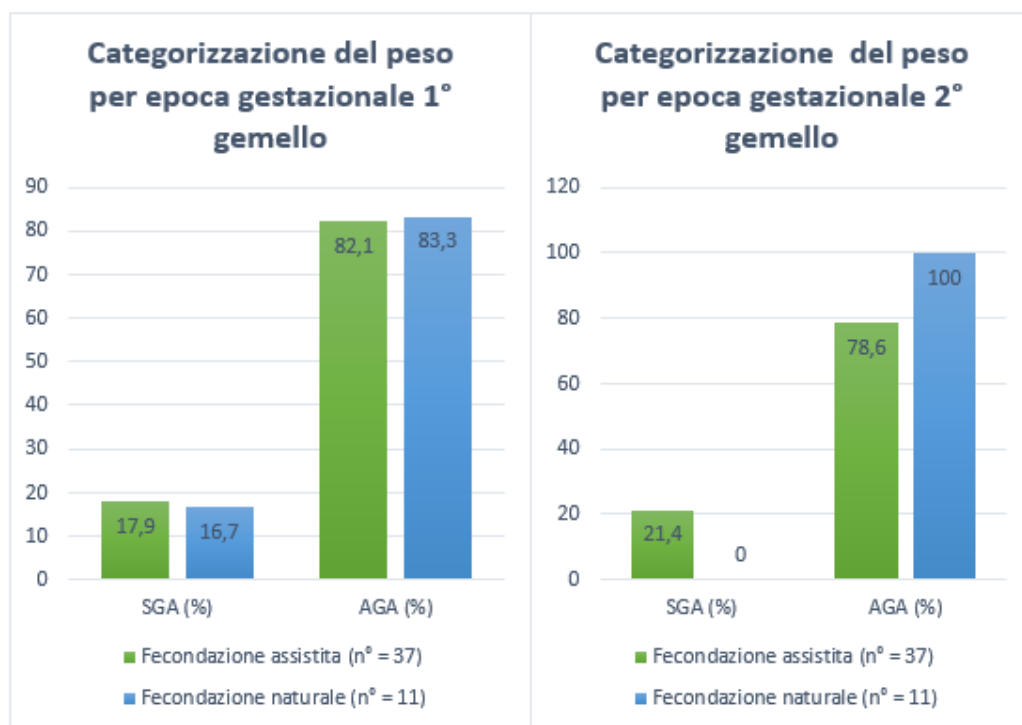


Fig. 15 Categorizzazione del peso per epoca gestazionale in gravidanze gemellari

6. DISCUSSIONE

Con l'incremento delle tecniche di PMA, il numero di gravidanze complicate da disturbi endocrini, tra cui spicca il diabete gestazionale, è aumentato, ma il correlato aumento del rischio di complicanze materne e fetali può essere ridotto al minimo grazie ad una adeguata gestione e osservazione clinica [77].

I dati della letteratura evidenziano un'aumentata incidenza di GDM nelle gravidanze concepite tramite tecniche di PMA [28] [78] [79] [80] [82], tanto che nello studio condotto dal *Bals-Pratsch M. et al* si propone di includere nelle linee guida il ricorso alla PMA come fattore di rischio per GDM, al fine di ridurre al minimo il rischio di conseguenze materne e fetali [90].

Sono invece recenti e poco numerosi i lavori che valutano gli outcomes delle gravidanze ottenute tramite PMA e complicate da GDM.

Lo studio condotto da *Inhorn M.C e Patrizio P.* evidenzia come il percorso di procreazione assistita rimanga ancora inaccessibile in molte aree del mondo, in particolare nelle zone più povere [7].

Tra le nostre pazienti, un numero inferiore di donne immigrate ha intrapreso un percorso di PMA, anche se il dato non è statisticamente significativo ed è spiegato probabilmente da questioni di natura culturale ed economica poiché, in Italia, l'accesso alle tecniche di procreazione assistita è garantito a chiunque ne abbia diritto, senza distinzione di nazionalità.

Thurston L. et al hanno dimostrato che una delle più rilevanti complicanze della PMA è l'elevata incidenza di gravidanze multiple, ad oggi maggiormente prevenibile tramite sofisticate tecniche di trasferimento elettivo di un singolo embrione, anche se non ancora evitabile [13].

Questo dato è confermato nel nostro studio, dove si evidenzia che la percentuale di gravidanze gemellari intraprese dalle pazienti sottoposte a PMA è significativamente maggiore rispetto alle donne con gravidanza insorta spontaneamente.

Szymanska M. et al hanno studiato retrospettivamente 173 donne con GDM e gravidanza insorta spontaneamente o tramite PMA e hanno rilevato un aumento ponderale comparabile in entrambi i gruppi di gestanti ($p = 0,800$) [86].

Per quanto concerne le nostre pazienti, si è preferito calcolare l'incremento separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari. In entrambi i casi il dato non è statisticamente significativo e la stessa cosa si osserva quando l'incremento ponderale viene categorizzato nei range eccessivo, adeguato e insufficiente come da linee guida IOM.

I tradizionali fattori di rischio per il GDM sono raramente presi in considerazione quando si confrontano gravidanze ottenute tramite PMA e gravidanze insorte spontaneamente [93]. Questo aspetto è stato invece approfondito nel nostro studio, in cui non si evidenziano differenze statisticamente significative per quanto riguarda la familiarità per il diabete, mentre si evidenzia una frequenza significativamente maggiore di pregresso GDM nelle pazienti con gravidanza insorta spontaneamente ($p < 0,001$). Nel nostro studio l'età materna ≥ 35 anni, l'obesità e il sovrappeso sono fattori di rischio sovrapponibili in quanto rientrano fra i criteri di selezione.

Per quanto concerne i valori di glicemia rilevati all'OGTT 75g, lo studio trasversale di *Cai S. et al* ha evidenziato che le donne sottoposte a PMA presentano un livello significativamente maggiore di glucosio nel sangue sia nella misurazione effettuata al tempo 0', sia in quella effettuata al tempo 120' [93].

Nel nostro studio, invece, sono le pazienti con gravidanza insorta spontaneamente a presentare un valore di prima glicemia significativamente più elevato rispetto alle donne con gravidanza insorta dopo PMA, e lo stesso accade all'OGTT 75g con la rilevazione effettuata al tempo 0'. Al tempo 120' però la situazione si inverte in quanto sono le pazienti sottoposte a PMA a registrare un valore glicemico significativamente più elevato, in accordo con lo studio di *Cai S. et al*.

In letteratura non sono rintracciabili lavori sul confronto tra il profilo lipidico alla diagnosi e parto delle gravidanze complicate da GDM e insorte tramite PMA e quello delle gravidanze complicate da GDM ma insorte spontaneamente. Questo aspetto è stato analizzato nel nostro studio, in cui si evidenzia un profilo lipidico

preparto del tutto simile fra i due gruppi, mentre i livelli alla diagnosi di colesterolo totale, LDL e trigliceridi risultano significativamente più elevati nelle donne sottoposte a PMA.

Per quanto concerne il ricorso all'utilizzo della terapia insulinica, in letteratura sono presenti dati contrastanti. Lo studio di coorte prospettico condotto da *Kouhkan A. et al* ed effettuato su 236 donne con diagnosi di GDM ha messo in luce che nelle gravidanze ottenute tramite procreazione assistita c'è un tasso più elevato di utilizzo di terapia insulinica rispetto alle gravidanze insorte spontaneamente [87]. Questi risultati sono però in contrasto con quelli ricavati dallo studio di *Ashrafi M. et al*, in cui la terapia insulinica è stata iniziata nel 20% delle donne con gravidanza insorta spontaneamente, nel 24% delle donne con gravidanza insorta con VF/ICSI e nel 23% delle donne con gravidanza insorta dopo IUI, concludendo che non vi è alcuna differenza statisticamente significativa nel ricorso all'utilizzo della terapia insulinica fra i vari gruppi [80].

I risultati del nostro studio sono in accordo con quelli ottenuti da *Ashrafi M. et al* poiché la percentuale di donne che ha necessitato di terapia insulinica risulta del tutto comparabile fra le donne con gravidanza insorta tramite PMA e quelle con gravidanza insorta naturalmente.

Sempre lo studio di *Ashrafi M. et al* riporta un'incidenza significativamente più alta di ipertensione indotta dalla gravidanza nel gruppo delle donne sottoposte a PMA rispetto al gruppo delle donne con gravidanza spontanea ($p = 0,010$) [80].

Questo però è in disaccordo con i dati ottenuti dal nostro studio in quanto la percentuale di donne con questo disturbo risulta simile fra i due gruppi ($p = 0,391$), così come accade per l'eclampsia e la preeclampsia.

È ormai risaputo che una normale funzione tiroidea è essenziale per il corretto funzionamento dell'asse gonadico e per il mantenimento della normale capacità riproduttiva; al contrario, qualsiasi tipo di disfunzione tiroidea può portare ad una riduzione della probabilità di insorgenza di una gravidanza, facendo aumentare il numero di donne che ricorrono a tecnologie di riproduzione assistita [94].

Questa evidenza viene confermata anche nel nostro studio in quanto la prevalenza della patologia tiroidea si registra con frequenza significativamente maggiore tra pazienti con gravidanza insorta tramite PMA ($p = 0,008$).

Lo studio di *Antoniou E. et al* ha evidenziato come la modalità di concepimento (spontanea o tramite PMA) vada ad influenzare la tipologia di parto; in particolare, le donne sottoposte a procreazione assistita hanno maggiori probabilità di doversi sottoporre ad un taglio cesareo elettivo rispetto a quelle con gravidanza insorta naturalmente [95].

Nel nostro studio, i dati riguardo alla tipologia di parto sono stati analizzati separatamente per quanto riguarda le gravidanze singole e quelle gemellari, in quanto per queste ultime è generalmente più frequente il ricorso al taglio cesareo. In accordo con *Antoniou E. et*, per le gravidanze singole si evidenzia una frequenza significativamente maggiore di parto cesareo nelle donne sottoposte a PMA rispetto a quelle del gruppo di controllo. Il nostro dato perde invece di significatività statistica se si considerano le gravidanze gemellari, in quanto la percentuale di parto cesareo risulta sovrapponibile fra i due gruppi.

Prove crescenti evidenziano un rischio maggiore di esiti avversi ostetrici e perinatali nelle gravidanze insorte tramite tecnologie di riproduzione assistita; tuttavia, si conosce ancora poco riguardo alle complicanze legate alle gravidanze ottenute tramite PMA e complicate da GDM [96]. Questo aspetto è stato approfondito nello studio di coorte prospettico di *Kouhkan A. et al*, effettuato su gravidanze singole complicate da GDM ed ottenute tramite PMA o con fecondazione spontanea. La percentuale di bambini con distress respiratorio, macrosomia e categorizzazione in SGA è simile fra i due gruppi oggetto di studio, mentre risulta significativamente diversa la percentuale di bambini presentanti ipoglicemia neonatale, pari a 11,5% per le gravidanze complicate da GDM ottenute con fecondazione assistita e a 3,3% per le gravidanze complicate da GDM insorte spontaneamente ($p = <0,004$) [96].

Anche il nostro studio è andato ad indagare questo aspetto, confrontando gli outcomes neonatali delle gravidanze ottenute tramite a PMA con quelli delle gravidanze insorte spontaneamente. Per tutti i parametri analizzati non si sono rilevate differenze statisticamente significative, in quanto le percentuali di

bambini che hanno presentano macrosomia, iperbilirubinemia, distress respiratorio, morbosità fetale, malformazioni e classificazione in SGA/AGA/LGA (calcolata separatamente per le gravidanze singole e quelle gemellari) risultano sovrapponibili fra le due popolazioni. Pure la percentuale di neonati presentanti ipoglicemia risulta sovrapponibile tra le donne sottoposte a PMA e quelle con fecondazione spontanea (3,1% vs 2,0%, $p = 0,414$), diversamente da quanto evidenziato da *Kouhkan A. et al.*

Sempre in riferimento agli outcomes neonatali, nello studio di *Szymanska M. et al* non sono state osservate differenze statisticamente significative per quanto riguarda il peso alla nascita dei bambini nati da gravidanze complicate da GDM e insorte tramite PMA e quelle complicate da GDM ed insorte spontaneamente [86]. Anche nel nostro studio, non si rilevano differenze statisticamente significative per quanto concerne i dati inerenti al peso alla nascita e al Ponderal Index dei bambini, sia per le gravidanze singole che per quelle gemellari; l'unica eccezione è peso alla nascita del secondo gemello, significativamente minore nelle donne sottoposte a procreazione assistita.

Un punto di forza del nostro studio è l'essere andato ad indagare un argomento ancora poco sviluppato in letteratura. Invece, un limite è sicuramente il disegno del nostro studio, il quale è stato condotto in modalità retrospettiva con tutti i limiti ad essa associati.

7. CONCLUSIONI

Il nostro studio non ha evidenziato differenze per quel che riguarda gli outcomes materni e neonatali delle gravidanze complicate da GDM ed insorte tramite PMA rispetto alle gravidanze complicate da GDM ma insorte spontaneamente.

Tra i vari fattori analizzati, le patologie tiroidee sono probabilmente importanti nel determinare alterazioni della fertilità. Sicuramente il ricorso alle tecniche di procreazione assistita comporta ancora oggi l'insorgenza di un numero più elevato di gravidanze multiple e la maggiore necessità di parto cesareo. In ogni caso, queste problematiche sono strettamente correlate alle procedure di PMA.

La diagnosi e il trattamento del GDM si dimostrano efficaci nel ridurre le morbidità anche nelle donne che hanno fatto ricorso alla procreazione assistita.

Studi condotti su una popolazione più ampia potrebbero evidenziare meglio le eventuali differenze legate alla modalità di concepimento.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Procreazione medicalmente assistita.
<https://www.salute.gov.it/portale/fertility/dettaglioContenutiFertility.jsp?area=fertilita&id=4570&lingua=italiano&menu=medicina>
2. Ricci G, Delbon P, Conti A, Sirignano A. Il difficile percorso normativo italiano sulla Procreazione Medicalmente Assistita: revisione della letteratura e stato dell'arte. Clin Ter 2015; 166 (3):e234-241. doi: 10.7417/T.2015.1858
3. Parlamento italiano. Legge 19 febbraio 2004, n. 40. "Norme in materia di procreazione medicalmente assistita" pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 45 del 24 febbraio 2004.
4. Ministero della Salute. Relazione del ministro della salute al parlamento sullo stato di attuazione della legge contenente norme in materia di procreazione medicalmente assistita (legge 19 febbraio 2004, n. 40, articolo 15). Roma, ottobre 2020.
5. Sharma R.S, Saxena R, Singh R. Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. Indian J Med Res. 2018 Dec; 148 (Suppl 1): S10–S14. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_636_18
6. Ministero della Salute. Linee guida contenenti le indicazioni delle procedure e delle tecniche di procreazione medicalmente assistita. Art. 7 - legge n. 40/2004. Linee guida 2015
7. Inhorn M.C, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. Aggiornamento sulla riproduzione umana, Volume 21, Numero 4, Luglio/Agosto 2015, Pagine 411–426. doi: 10.1093/humupd/dmv016
8. Wasilewska T, Łukaszewicz-Zajęcb M, Wasilewskac J, Mroczkobd B. Biochemistry of infertility. Clinica Chimica Acta Volume 508, September 2020, Pages 185-190
9. Tamrakar SR, Bastakoti R. Determinants of Infertility in Couples. J Nepal Health Res Counc. 2019 Apr 28;17(1):85-89. doi: 10.33314/jnhrc.1827. PMID: 31110383.
10. Hanson B, Johnstone E, Dorais J, Silver B, Peterson CM, Hotaling J. Female infertility, infertility-associated diagnoses, and comorbidities: a review. J Assist Reprod Genet. 2017;34(2):167-177. doi:10.1007/s10815-016-0836-8
11. Niels E. Skakkebaek, Ewa Rajpert-De Meyts, Germaine M. Buck Louis, Jorma Toppari, Anna-Maria Andersson, Michael L. Eisenberg, Tina Kold Jensen, Niels

- Jørgensen, Shanna H. Swan, Katherine J. Sapra, Søren Ziebe, Lærke Priskorn, and Anders Juul. Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiol Rev.* 2016 Jan; 96(1): 55–97. doi: 10.1152/physrev.00017.2015
12. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Fertility problems: assessment and treatment. Clinical guideline 2013.
 13. Thurston L, Abbara A, Dhillon WS. Investigation and management of subfertility. *J Clin Pathol.* 2019 Sep;72(9):579-587. doi: 10.1136/jclinpath-2018-205579.
 14. Lindsay TJ, Vitrikas KR. Evaluation and treatment of infertility. *Am Fam Physician.* 2015 Mar 1;91(5):308-14. Erratum in: *Am Fam Physician.* 2015 Sep 15;92 (6):437. PMID: 25822387.
 15. UnitedHealthCare Commercial Medical Policy. Infertility diagnosis and treatment. Policy Number: 2022T0270AA. Effective Date: January 1, 2022
 16. Szamatowicz M, Szamatowicz J. Proven and unproven methods for diagnosis and treatment of infertility. *Adv Med Sci.* 2020 Mar;65(1):93-96. doi: 10.1016/j.advms.2019.12.008.
 17. Ayeleke RO, Asseler JD, Cohlen BJ, Veltman-Verhulst SM. Intra-uterine insemination for unexplained subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Mar 3;3(3):CD001838. doi: 10.1002/14651858.CD001838.pub6.
 18. Kop PA, Mochtar MH, O'Brien PA, Van der Veen F, van Wely M. Intrauterine insemination versus intracervical insemination in donor sperm treatment. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 Jan 25;1(1):CD000317. doi: 10.1002/14651858.CD000317.pub4.
 19. Peivandi S, Ebadi A, Modanlu S. The comparison between Intrauterine Insemination and Fallopian Tube Sperm Perfusion Using FAST®System in Patients with Unexplained Infertility. *Int J Fertil Steril.* 2015 Jan-Mar;8(4):379-84. doi: 10.22074/ijfs.2015.4177.
 20. Choi SY, Lee KH, Suk HJ, Chae HD, Kang BM, Kim CH. Successful pregnancy by direct intraperitoneal insemination in an infertile patient with failure of recanalization of isthmic stenosis after laparoscopic radical trachelectomy. *Obstet Gynecol Sci.* 2014 Jan;57(1):82-5. doi: 10.5468/ogs.2014.57.1.82.
 21. Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Boulet SL, Warner L, Barfield WD. Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2015. *MMWR Surveill Summ.* 2018 Feb 16;67(3):1-28.

22. Choe J, Archer JS, Shanks AL. In Vitro Fertilization. 2021 Sep 9. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan–. PMID: 32965937.
23. Haddad M, Stewart J, Xie P, Cheung S, Trout A, Keating D, Parrella A, Lawrence S, Rosenwaks Z, Palermo GD. Thoughts on the popularity of ICSI. *J Assist Reprod Genet.* 2021 Jan;38(1):101-123. doi: 10.1007/s10815-020-01987-0.
24. Sauerbrun-Cutler MT, Huber WJ 3rd, Has P, Shen C, Hackett R, Alvero R, Wang S. Is intracytoplasmic sperm (ICSI) better than traditional in vitro fertilization (IVF): confirmation of higher blastocyst rates per oocyte using a split insemination design. *J Assist Reprod Genet.* 2020 Jul;37(7):1661-1667. doi: 10.1007/s10815-020-01819-1.
25. Rowell P, Braude P. Assisted conception. I--General principles. *BMJ.* 2003 Oct 4;327(7418):799-801. doi: 10.1136/bmj.327.7418.799.
26. Szamatowicz M. Assisted reproductive technology in reproductive medicine - possibilities and limitations. *Ginekol Pol.* 2016;87(12):820-823. doi: 10.5603/GP.2016.0095.
27. Zeinab H, Zohreh S, Samadaee Gelehkolaee K. Lifestyle and Outcomes of Assisted Reproductive Techniques: A Narrative Review. *Glob J Health Sci.* 2015 Feb 24;7(5):11-22. doi: 10.5539/gjhs.v7n5p11.
28. Sullivan-Pyke CS, Senapati S, Mainigi MA, Barnhart KT. In Vitro fertilization and adverse obstetric and perinatal outcomes. *Semin Perinatol.* 2017 Oct;41(6):345-353. doi: 10.1053/j.semperi.2017.07.001.
29. Cavoretto P, Candiani M, Giorgione V, Inversetti A, Abu-Saba MM, Tiberio F, Sigismondi C, Farina A. Risk of spontaneous preterm birth in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment: meta-analysis of cohort studies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018 Jan;51(1):43-53. doi: 10.1002/uog.18930.
30. Von Wolff M, Haaf T. In Vitro Fertilization Technology and Child Health. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;117(3):23-30. doi:10.3238/arztebl.2020.0023
31. Hargreave M, Jensen A, Toender A, Andersen KK, Kjaer SK. Fertility treatment and childhood cancer risk: a systematic meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013 Jul;100(1):150-61. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.03.017.
32. Ying L, Wu LH, Loke AY. The effects of psychosocial interventions on the mental health, pregnancy rates, and marital function of infertile couples undergoing in vitro fertilization: a systematic review. *J Assist Reprod Genet.* 2016 Jun;33(6):689-701. doi: 10.1007/s10815-016-0690-8.

33. Comitato regionale percorso nascita, Tavolo tecnico regionale sulla malattia diabetica, Direzione centrale salute, integrazione sociosanitaria, politiche sociali e famiglia. Il diabete gestazionale: Documento di indirizzo per la gestione del diabete gestazionale. Allegato alla delibera n. 1676 del 28 agosto 2015 della regione autonoma Friuli-Venezia Giulia.
34. Torlone E, Lapolla A, in qualità di referenti rispettivamente per SID ed AMD, del panel delle LG per la gravidanza Fisiologica dell'ISS insediato nel gennaio 2020. Raccomandazioni per la diagnosi del diabete gestazionale durante la pandemia COVID-19 (Versione 08-05-2020)
35. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(4):228–36. doi:10.1038/nrendo.2011.183.
36. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, Whiting DR, Cho NH. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103(2):176–85. doi:10.1016/j.diabres.2013.11.003.
37. Zhu Y, Zhang C. Prevalence of Gestational Diabetes and Risk of Progression to Type 2 Diabetes: a Global Perspective. *Curr Diab Rep.* 2016 Jan;16(1):7. doi: 10.1007/s11892-015-0699-x. PMID: 26742932; PMCID: PMC6675405.
38. Bonomo M. La prevalenza dell'iperglicemia in gravidanza. *ame flash* nr. 20 - ottobre 2014, www.associazionemediciendocrinologi.it
39. Zhang C. Risk factors for gestation diabetes-from an epidemiological standpoint. In: Kim C, Ferrara A, eds *Gestational diabetes during and after pregnancy*. London, United Kingdom: Springer-Verlag London Limited, 2010:71–81
40. Zhang C, Rawal S, Chong YS. Risk factors for gestational diabetes: is prevention possible? *Diabetologia.* 2016;59(7):1385-1390. doi:10.1007/s00125-016-3979-3
41. Tobias DK, Zhang C, van Dam RM, Bowers K, Hu FB (2011) Physical activity before and during pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: a meta-analysis. *Diabetes Care* 34:223–229
42. Zhang C, Ning Y (2011). Effect of dietary and lifestyle factors on the risk of gestational diabetes: review of epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr* 94:1975S–1979S. doi: 10.3945/ajcn.110.001032
43. Zhang C, Schulze MB, Solomon CG, Hu FB. A prospective study of dietary patterns, meat intake and the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia* 2006;49:2604–13

44. Zhang C, Tobias DK, Chavarro JE et al. (2014) Adherence to healthy lifestyle and risk of gestational diabetes mellitus: prospective cohort study. *BMJ* 349:g5450.
45. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3342. Published 2018 Oct 26. doi:10.3390/ijms19113342
46. Buchanan TA, Xiang AH. Gestational Diabetes. *J. Clin Invest* 2005; 115:485-91.
47. Ashcroft F.M, Rohm M, Clark A, Brereton M.F. Is Type 2 Diabetes a Glycogen Storage Disease of Pancreatic β Cells? *Cell MeTable.* 2017;26:17–23. doi: 10.1016/j.cmet.2017.05.014
48. Prentki M, Nolan C.J. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J. Clin. Investig.* 2006;116:1802–1812. doi: 10.1172/JCI29103
49. Catalano P.M. Trying to understand gestational diabetes. *Diabet. Med.* 2014;31:273–281. doi: 10.1111/dme.12381
50. Di Cianni G, Fatati G, Lapolla A, Leotta S, Mannino D, Parillo M, Pipicelli G. La terapia dietetica nella gravidanza diabetica, raccomandazioni. Capitolo 1: fisiopatologia del metabolismo in gravidanza. Linee guida 2006 AMD, SID, ADI
51. Farr O.M, Gavrieli A, Mantzoros C.S. Leptin applications in 2015: What have we learned about leptin and obesity? *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2015;22:353–359. doi: 10.1097/MED.0000000000000184
52. Honnorat D, Disse E, Millot L, Mathiotte E, Claret M, Charrie A, Draï J, Garnier L, Maurice C, Durand E, et al. Are third-trimester adipokines associated with higher metabolic risk among women with gestational diabetes? *Diabetes MeTable.* 2015;41:393–400. doi: 10.1016/j.diabet.2015.03.003
53. Bouchard L, Hivert M.F, Guay S.P, St-Pierre J, Perron P, Brisson D. Placental adiponectin gene DNA methylation levels are associated with mothers' blood glucose concentration. *Diabetes.* 2012;61:1272–1280. doi: 10.2337/db11-1160
54. Mallardo M, Ferraro S, Daniele A, Nigro E. GDM-complicated pregnancies: focus on adipokines. *Mol Biol Rep.* 2021; 48(12): 8171–8180. doi: 10.1007/s11033-021-06785-0
55. Rojas-Rodriguez R, Lifshitz L.M, Bellve K.D, Min S.Y, Pires J, Leung K, Boeras C, Sert A, Draper J.T, Corvera S, et al. Human adipose tissue expansion in

- pregnancy is impaired in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2015;58:2106–2114. doi: 10.1007/s00125-015-3662-0
56. Lappas M. Effect of pre-existing maternal obesity, gestational diabetes and adipokines on the expression of genes involved in lipid metabolism in adipose tissue. *Metabolism*. 2014;63:250–262. doi: 10.1016/j.metabol.2013.10.001
 57. Forbes S, Taylor-Robinson S.D, Patel N, Allan P, Walker B.R, Johnston D.G. Increased prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in European women with a history of gestational diabetes. *Diabetologia*. 2011;54:641–647. doi: 10.1007/s00125-010-2009-0
 58. Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Hauguel-de Mouzon S, Jawerbaum A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid. Redox Signal*. 2011;15:3061–3100. doi: 10.1089/ars.2010.3765
 59. Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C, Chen M. Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: A case-control study. *PLoS ONE*. 2015;10:e0126490. doi: 10.1371/journal.pone.0126490
 60. Debreceeni B, Debreceeni L. The role of homocysteine-lowering B-vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Cardiovasc. Ther*. 2014;32:130–138. doi: 10.1111/1755-5922.12064
 61. Szmulowicz ED, Josefson JL, Metzger BE. Gestational Diabetes Mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2019;48(3):479-493. doi:10.1016/j.ecl.2019.05.001
 62. Byrn M, Penckofer S. The relationship between gestational diabetes and antenatal depression. *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs*. 2015;44:246–255. doi: 10.1111/1552-6909.12554
 63. Tan P.C, Ling L.P, Omar S.Z. The 50-g glucose challenge test and pregnancy outcome in a multiethnic Asian population at high risk for gestational diabetes. *Int. J. Gynecol. Obstet*. 2009;105:50–55. doi: 10.1016/j.ijgo.2008.11.038
 64. Shostrom D.C.V, Sun Y, Oleson J.J, Snetselaar L.G, Bao W. History of Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Cardiovascular Disease and Cardiovascular Risk Factors in US Women. *Front. Endocrinol*. 2017;8:144. doi: 10.3389/fendo.2017.00144

65. Ornoy A, Becker M, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Diabetes during Pregnancy: A Maternal Disease Complicating the Course of Pregnancy with Long-Term Deleterious Effects on the Offspring. A Clinical Review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(6):2965. Published 2021 Mar 15. doi:10.3390/ijms22062965
66. Fetita L.S, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier J.F. Consequences of Fetal Exposure to Maternal Diabetes in Offspring. *J. Clin. Endocrinol. MeTable.* 2006;91:3718–3724. doi: 10.1210/jc.2006-0624
67. Gascho C.L.L, Leandro D.M.K, Ribeiro E, Silva T, Silva J.C. Predictors of cesarean delivery in pregnant women with gestational diabetes mellitus. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 2017;39:60–65. doi: 10.1055/s-0037-1598644
68. Esakoff T.F, Cheng Y.W, Sparks T.N, Caughey A.B. The association between birthweight 4000 g or greater and perinatal outcomes in patients with and without gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009;200:672.e1–672.e4. doi: 10.1016/j.ajog.2009.02.035
69. Tam W.H, Ma R.C.W, Ozaki R, Li A.M, Chan M.H.M, Yuen L.Y, Lao T.T.H, Yang X, Ho C.S, Tutino G.E, et al. In Utero Exposure to Maternal Hyperglycemia Increases Childhood Cardiometabolic Risk in Offspring. *Diabetes Care.* 2017;40:679–686. doi: 10.2337/dc16-2397
70. Lapolla A, Giorgino F.L. Lo screening e la diagnosi del Diabete Gestazionale: nuove raccomandazioni. *Riv. It. Ost. Gin. - 2010 - Num. 26*
71. La gravidanza fisiologica aggiornamento 2011. Sistema nazionale per le linee guida; Ministero della salute, Istituto Superiore di Sanità, Centro per la Valutazione dell'Efficacia dell'Assistenza Sanitaria (CeVEAS)
72. Gruppo di Studio “Diabete e Gravidanza” SID-AMD. Conferenza Nazionale di consenso per raccomandazioni e implementazione delle nuove linee guida per lo screening e la diagnosi del diabete gestazionale (GDM). Roma, 27 marzo 2010.
73. Gruppo di studio interassociativo AMD-SID diabete e gravidanza. Le Linee Guida Italiane per lo Screening e la Diagnosi di Diabete Gestazionale: criticità e proposte per il miglioramento.
74. Lende M, Rijhsinghani A. Gestational Diabetes: Overview with Emphasis on Medical Management. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(24):9573. Published 2020 Dec 21. doi:10.3390/ijerph17249573
75. Gruppo di lavoro AMD-SID- SIEDP-OSDI- SIBioC – SIMeL. Raccomandazioni per l'autocontrollo della glicemia nel paziente diabetico.

76. SID, AMD. Standard italiani per la cura del diabete mellito 2018. 27 aprile 2018
77. Calina D, Docea AO, Golokhvast KS, Sifakis S, Tsatsakis A, Makrigiannakis A. Management of Endocrinopathies in Pregnancy: A Review of Current Evidence. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Mar 4;16(5):781. doi: 10.3390/ijerph16050781.
78. Zhu L, Zhang Y, Liu Y, et al. Maternal and Live-birth Outcomes of Pregnancies following Assisted Reproductive Technology: A Retrospective Cohort Study. *Sci Rep*. 2016;6:35141.
79. Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*. 2012;18(5):485–503.
80. Ashrafi M, Gosili R, Hosseini R, Arabipoor A, Ahmadi J, Chehrazhi M. Risk of gestational diabetes mellitus in patients undergoing assisted reproductive techniques. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2014;176:149–152.
81. Caserta D, Bordi G, Stegagno M, Filippini F, Podagrosi M, Roselli D, Moscarini M. Maternal and perinatal outcomes in spontaneous versus assisted conception twin pregnancies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014 Mar;174:64-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.12.011.
82. Qin J, Wang H, Sheng X, Liang D, Tan H, Xia J. Pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in multiple pregnancies resulting from assisted reproductive technology: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril*. 2015 Jun;103(6):1492-508.e1-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.03.018.
83. Qin J, Sheng X, Wu D, et al. Adverse Obstetric Outcomes Associated With In Vitro Fertilization in Singleton Pregnancies. *Reproductive Sciences*. 2016;0(0) 1933719116667229.
84. Bals-Pratsch M, Grosser B, Seifert B, Ortmann O, Seifarth C. Early onset and high prevalence of gestational diabetes in PCOS and insulin resistant women before and after assisted reproduction. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011 Jun;119(6):338-42. doi: 10.1055/s-0030-1269883.
85. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012 Feb;97(2):324-31. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.11.033

86. Szymanska M, Horosz E, Szymusik I, Bomba-Opon D, Wielgos M. Gestational diabetes in IVF and spontaneous pregnancies. *Neuro Endocrinol Lett.* 2011;32(6):885-8.
87. Kouhkan A, Baradaran HR, Hosseini R, Arabipoor A, Moini A, Pirjani R, Khajavi A, Khamseh ME. Assisted conception as a potential prognostic factor predicting insulin therapy in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Reprod Biol Endocrinol.* 2019 Oct 27;17(1):83. doi: 10.1186/s12958-019-0525-4.
88. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Obesity and reproduction: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2015 Nov;104(5):1116-26. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.08.018.
89. Kouhkan A, Khamseh ME, Moini A, Pirjani R, Arabipoor A, Zolfaghari Z, Hosseini R, Baradaran HR. Diagnostic Accuracy of Body Mass Index and Fasting Glucose for The Prediction of Gestational Diabetes Mellitus after Assisted Reproductive Technology. *Int J Fertil Steril.* 2019 Apr;13(1):32-37. doi: 10.22074/ijfs.2019.5505.
90. Bals-Pratsch M, Eder A, Gutknecht D. Gestational Diabetes as a Maternal Risk Factor. *Dtsch Arztebl Int.* 2020;117(24):421-422. doi:10.3238/arztebl.2020.0421b
91. Fill Malfertheiner S, Gutknecht D, Bals-Pratsch M. Preconception Optimization of Glucose and Insulin Metabolism in Women Wanting to Conceive - High Rate of Spontaneous Conception Prior to Planned Assisted Reproduction. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2017;77(12):1312-1319. doi:10.1055/s-0043-122279
92. Cirillo M, Coccia ME, Fatini C. Lifestyle and Comorbidities: Do We Take Enough Care of Preconception Health in Assisted Reproduction? *J Family Reprod Health.* 2020;14(3):150-157. doi:10.18502/jfrh.v14i3.4667.
93. Cai S, Natarajan P, Chan JKY, Wong PC, Tan KH, Godfrey KM, Gluckman PD, Shek LPC, Yap F, Kramer MS, Chan SY, Chong YS. Maternal hyperglycemia in singleton pregnancies conceived by IVF may be modified by first-trimester BMI. *Hum Reprod.* 2017 Sep 1;32(9):1941-1947. doi: 10.1093/humrep/dex243.
94. Mintziori G, Anagnostis P, Toulis KA, Goulis DG. Thyroid diseases and female reproduction. *Minerva Med.* 2012 Feb;103(1):47-62.
95. Antoniou E, Orovou E, Iliadou M, Sarella A, Palaska E, Rigas N, Iatrakis G, Dagla M. The Kind of Conception Affects the Kind of Cesarean Delivery in

Primiparous Women. *Mater Sociomed.* 2021 Sep;33(3):188-194. doi: 10.5455/msm.2021.33.188-194.

96. Kouhkan A, Khamseh ME, Pirjani R, Moini A, Arabipoor A, Maroufizadeh S, Hosseini R, Baradaran HR. Obstetric and perinatal outcomes of singleton pregnancies conceived via assisted reproductive technology complicated by gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018 Dec 14;18(1):495. doi: 10.1186/s12884-018-2115-4.