



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO
U.O.C. Clinica Ginecologica Ostetrica
SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN GINECOLOGIA E OSTETRICIA
Direttore Prof. Giovanni B. Nardelli

TESI DI SPECIALIZZAZIONE

**Acidi grassi a media catena:
profilo plasmatico materno e fetale
in gravidanze AGA, SGA e IUGR**

Relatore: Prof. Erich Cosmi
Correlatrice: Dott.ssa Silvia Visentin

Dott.ssa Arianna De Lazzari

Feto IUGR

(IntraUterine Growth Restriction)

Feto che non ha raggiunto il suo *potenziale di crescita* a seguito di un evento patologico intervenuto in utero.

Adattamento a condizioni sfavorevoli in utero



Alterazione metabolismo, sviluppo e crescita fetale



Outcome perinatale avverso
(MEU, disturbi metabolici, cardiovascolari, neurologici)

Diagnosi:

- EFW < 10° percentile
- PIAO > 95° percentile

Baschat AA, et al. Am J Obstet Gynecol 2000;182:154-158.

Early IUGR	Late IUGR
< 32 sg	> 32 sg
Meno frequente	Più frequente
Anomalie villi terziari	Immaturità villi
Ipotrofia asimmetrica	Rallentamento/appiattimento curva di crescita, aumento CC/CA
Progressivo deterioramento dei parametri Doppler fetali	Manca classica sequenza di deterioramento flussimetria

DD SGA: piccolo costituzionale, outcome favorevole

Update on the Diagnosis and Classification of Fetal Growth Restriction and Proposal of a Stage-Based Management Protocol

Francesc Figueras Eduard Gratacós

Barcelona Center of Maternal-Fetal Medicine and Neonatology (Hospital Clinic and Hospital Sant Joan de Deu), IDIBAPS, University of Barcelona, and Centre for Biomedical Research on Rare Diseases (CIBER-ER), Barcelona, Spain

CPR < 5°p, PI UtA > 95°p o EFW < 3°p
aumenta il rischio di outcome
perinatale avverso

La definizione di FGR dovrebbe
includere questi 3 parametri per
distinguere late-onset IUGR da SGA

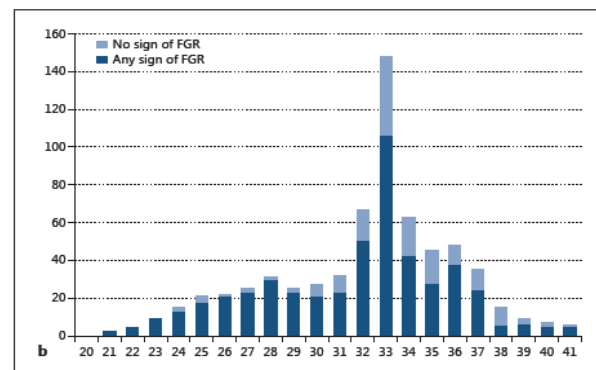
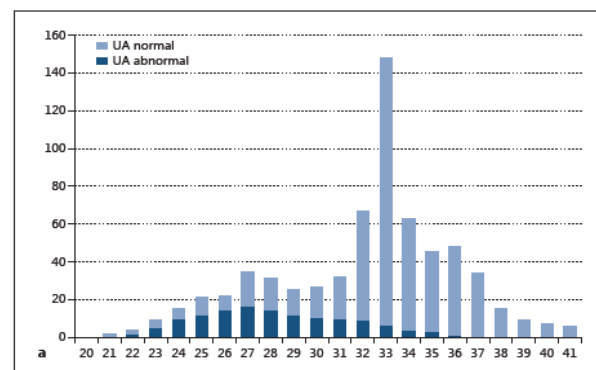


Fig. 1. Distribution of a large population of small fetuses (n = 656) in FGR or SGA. **a** FGR is defined by an UA PI >95th centile only. **b** FGR is defined using a combination of CPR <5th centile, UtA PI >95th centile and an EFW <3rd centile. Note how a remarkable proportion of 'SGA' defined by UA PI are reclassified as true FGR when the combined definition is used, particularly among late-onset FGR fetuses.

Il ruolo degli acidi grassi nel metabolismo materno-fetale

Acidi grassi a catena lunga (LCFA):

C 14 - 20.

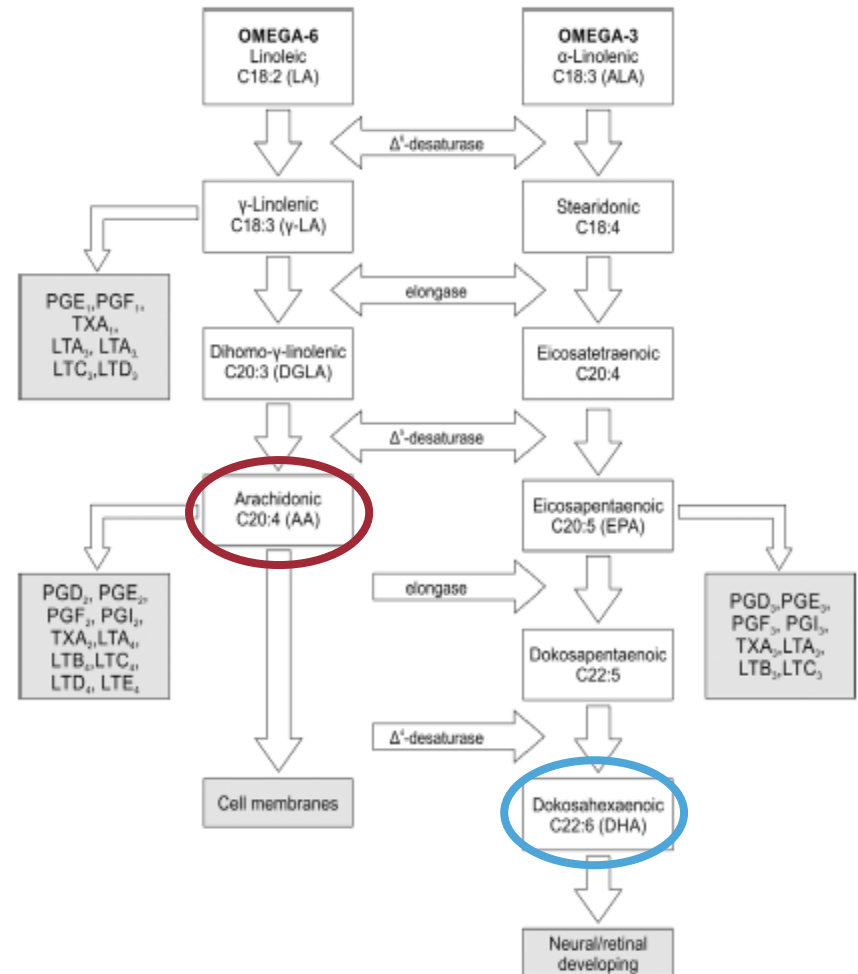
Acidi essenziali: linoleico e α -linoleico

Non sintetizzati dal corpo umano, forniti al feto tramite la dieta materna

Precursori dell'acido arachidonico (AA) e dell'acido docosaesaenoico (DHA)

Il DHA:

- Fluidità e flessibilità alle membrane neuronali ed endoteliali del SNC
- Coinvolto nella neurotrasmissione
- Forma metaboliti neuroprotettivi
- Selettivamente incorporato nel cervello e nella retina fetale 10 vv più rapidamente dell'acido linoleico e α -linoleico



Il ruolo degli acidi grassi nel metabolismo materno-fetale

Gli acidi grassi vengono captati dalla placenta come acidi grassi liberi o lipoproteine materne.

Attraversano il doppio foglietto lipidico delle membrane:

- Diffusione semplice
- Proteine di membrana

I loro livelli sono correlati a quelli materni, con una concentrazione fetale inferiore rispetto a quella materna.

BIOMAGNIFICAZIONE

Capacità della placenta o del feto di aumentare dei livelli di **DHA** e Acido Arachidonico nella circolazione fetale, a scapito dell'acido linoleico e α -linoleico

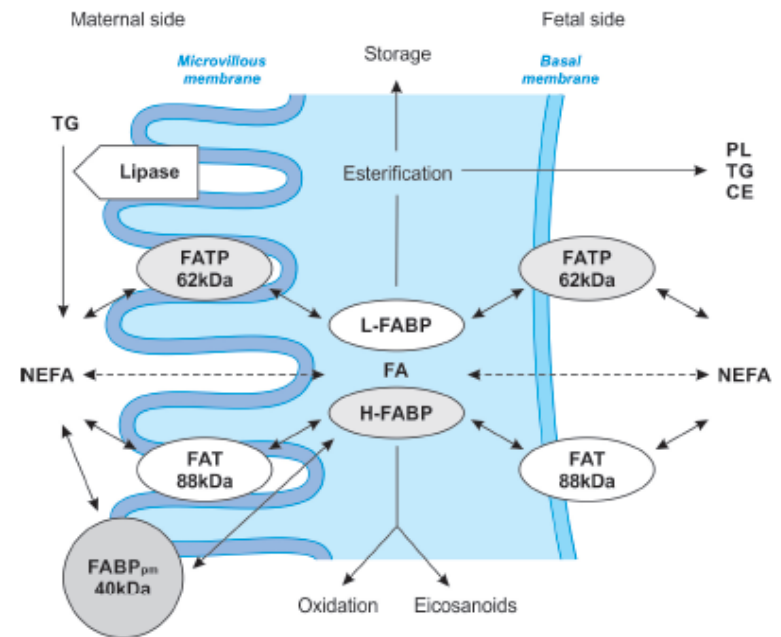
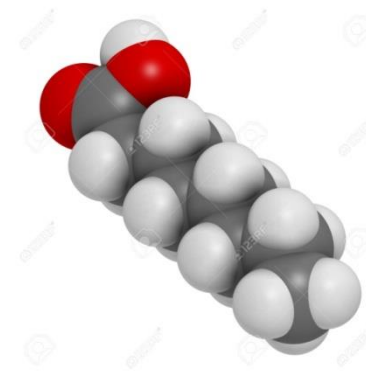


Figure 5. Fatty acid metabolism in syncytiotrophoblast cells. FABP_{pm}, plasma membrane fatty acid-binding protein; FATP, fatty acid transport protein; FAT, fatty acid translocase; L-FABP, liver-type fatty acid-binding protein; H-FABP, heart-type fatty acid-binding protein; TG, triglyceride; FA, fatty acid; NEFA, non-esterified fatty acid; PL, phospholipid; CE, cholesterol ester.

Acidi grassi a media catena (MCFA)



N° atomi C 6 – 12

Trasportati direttamente al fegato via circolazione portale

Entrano liberamente nei mitocondri (no sistema di trasporto della carnitina), risparmio ATP

Ottimo substrato per **produzione di energia mitocondriale**:

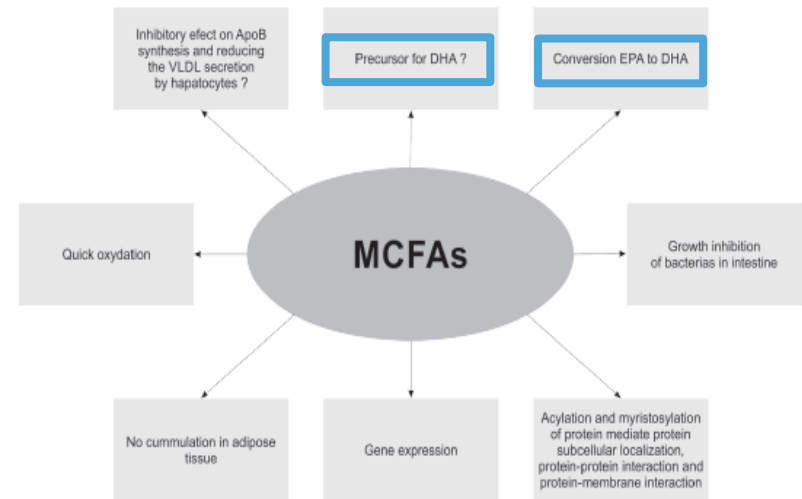
- Neonati con sistemi enzimatici inefficienti
- Neonati con elevata richiesta metabolica

Effetto battericida sui microorganismi del tratto digestivo
(Clostridium, Salmonella, E. Coli, H. Pylori)

Effetto sul metabolismo del grasso materno
(ossidazione epatica rapida, non immagazzinati nel t. adiposo)

In modelli animali: lenta conversione
C12:0 → C12:1 → acido α-linoleico
Possibile formazione di **DHA** da **C12:0**

Cambia i cardini del metabolismo materno-fetale



Scopo dello Studio



1. Valutare i *livelli plasmatici* degli *acidi grassi a media catena* delle madri e dei rispettivi feti AGA, SGA e IUGR.
2. Ricercare l'eventuale diversa espressione di *acidi grassi a lunga catena* nei tre gruppi di coppie madre-figlio in esame.

Materiali e Metodi

Studio longitudinale caso-controllo

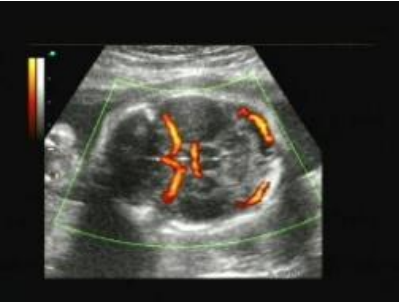
Gennaio 2012 - Novembre 2015

Criteria Materni di inclusione:

- Età tra i **18** e i **40** anni;
- Epoca gestazionale tra **28** e **32 sg**
- Dieta mediterranea (escluse dallo studio pazienti vegetariane, vegane o monotematiche)

Fattori materni e fetali di esclusione:

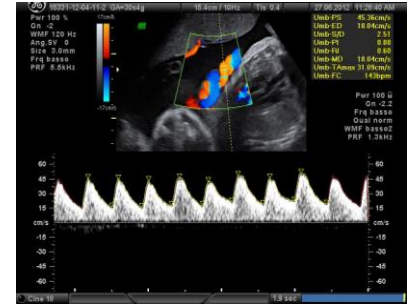
- gravidanze gemellari
- gravidanze complicate da malattie cardiovascolari o endocrine materne
- anomalie strutturali o cromosomiche fetali
- rottura prematura pretermine delle membrane, corionamniosite e/o infezione perinatale
- attitudine al fumo e/o all'alcol
- uso di sostanze stupefacenti
- uso di farmaci



Materiali e Metodi

Valutazione ecografica

28-32 sg



Definizioni fetali:

Feti AGA: EFW 10° - 90° percentile

Feti SGA: EFW < 10° percentile in accordo alle curve di riferimento, con PI AO, PI MCA, PI UtA nel range di normalità

Feti IUGR:

- EFW < 3° percentile
- EFW < 10° percentile con PI AO > 95° percentile
- CPR < 5° centile
- Media PI UtA > 95° percentile
- Peso neonatale < 3° percentile

*Festini F, et al. J Matern Fetal Neonatal Med. 2004 Jun;15(6):411-7.
Figueras F, et al. Fetal Diagn Ther. 2014;36(2):86-98.*



Materiali e Metodi



Outcome materno-fetale:

- Campione **ematico materno**
- Campione **ematico funicolare** alla nascita
- Dati relativi al parto, caratteristiche cliniche, antropometriche e outcome fetale

Analisi dei campioni:

Profilo lipidomico e lipidico con gascromatografia accoppiata alla spettrometria di massa
(Istituto di Ricerca Pediatrica Città della Speranza di Padova)

Analisi statistica:

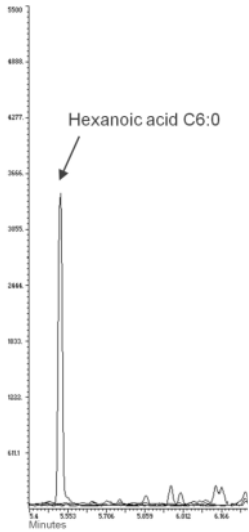
- **ANOVA e Bonferroni** per caratteristiche antropometriche materne, fetali e livelli di acidi grassi
- **Test esatto di Fisher** per caratteristiche cliniche e outcome materno e fetale

	AGA (12)	IUGR (11)	SGA (10)	Analisi statistica
Età materna (anni)	36.2 ± 4.2	32.5 ± 7.0	30.1 ± 6.1	<i>ns</i>
Etnia caucasica*	12 (100%)	11 (100%)	9 (90%)	<i>ns</i>
Primipare*	2 (16,6%)	7 (63,6%)	4 (40%)	<i>a,b</i>
BMI pregrav (kg/m ²)	21.6 ± 1.8	20.6 ± 1.5	20.5 ± 1.5	<i>ns</i>
BMI term (kg/m ²)	22.5 ± 1.4	21.5 ± 1.5	21.4 ± 1.5	<i>ns</i>
Sg al parto	38.4 ± 1.4	34.3 ± 3.0	37.5 ± 0.8	<i>a, c</i>
Modalità parto (TC)*	7 (58,3%)	6 (54,5%)	5 (50%)	<i>ns</i>
Peso neonatale (g)	3210 ± 328	1605 ± 531	2488 ± 232	<i>a, b, c</i>
Lunghezza neon(cm)	48.3 ± 2.9	40.7 ± 5.5	46.1 ± 1.6	<i>a</i>
CC neonatale (cm)	34.0 ± 1.7	30.6 ± 2.2	32.7 ± 1.4	<i>a</i>
Sesso Maschile*	5 (41,6%)	4 (36,3%)	4 (40%)	<i>ns</i>
Apgar a 5' < 7	0	0	0	-
NICU*	1 (8,3%)	6 (54,5%)	0 (0%)	<i>a,b,c</i>

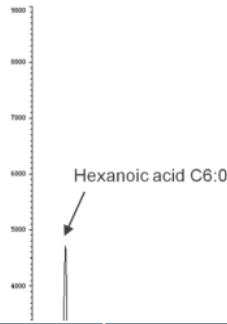
Differenze statisticamente significative a: AGA e IUGR; b: AGA e SGA; c: IUGR e SGA

Risultati - MCFA

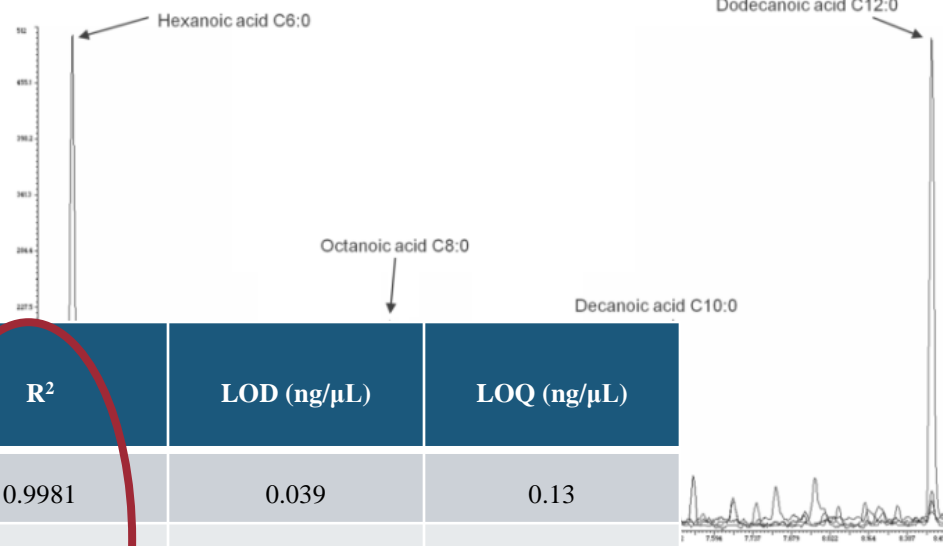
Maternal AGA



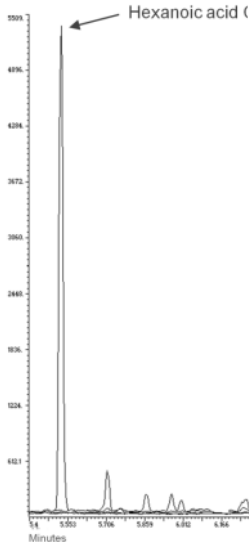
Maternal IUGR



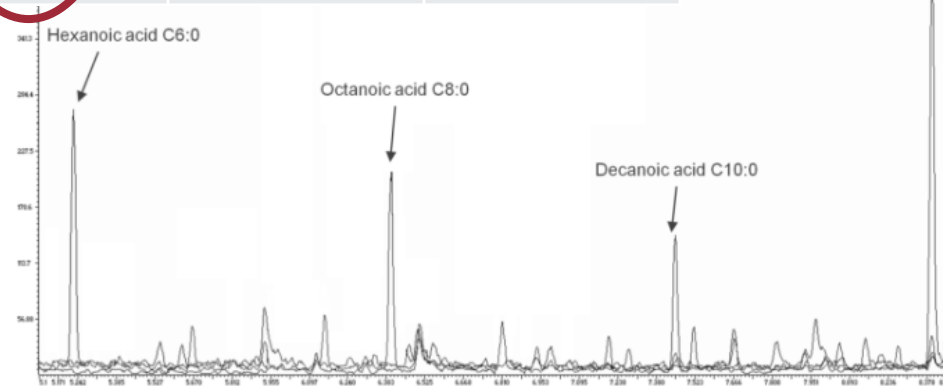
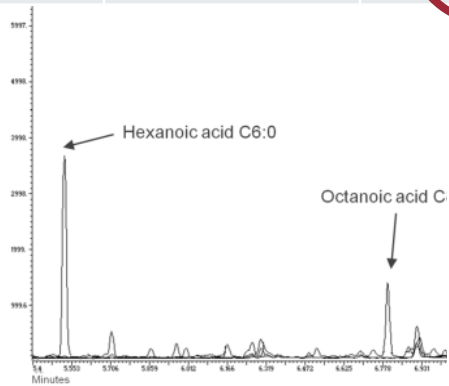
Maternal SGA



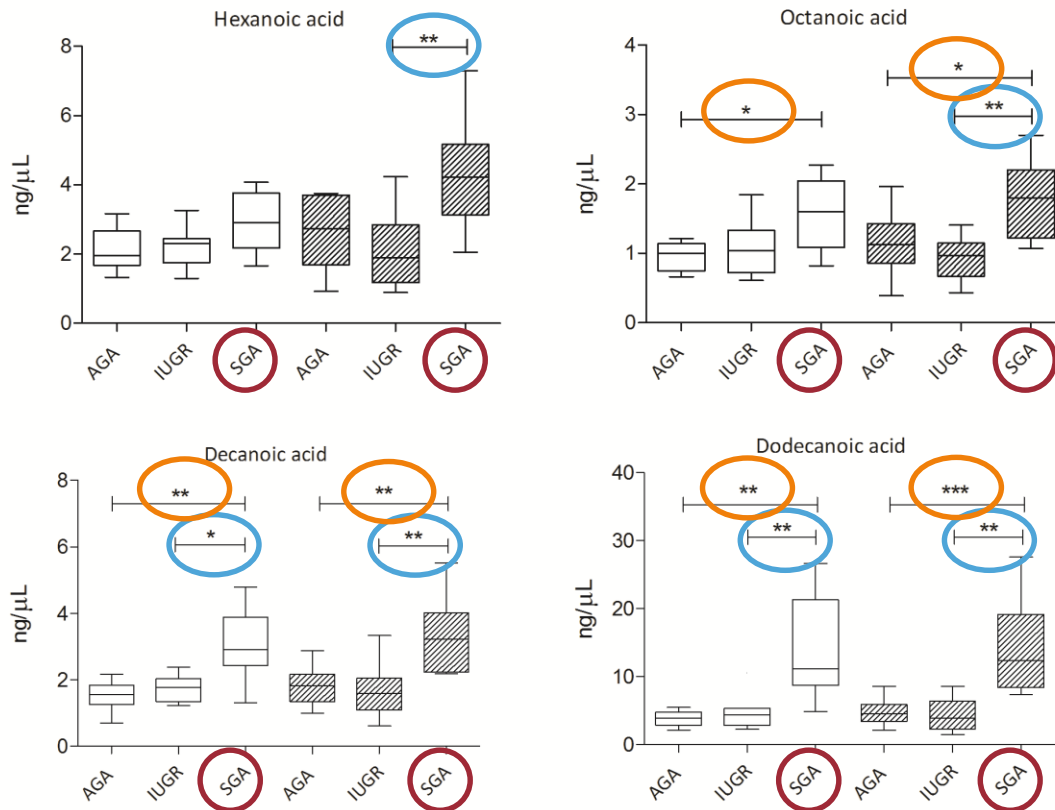
Fetal AGA



Acidi grassi a media catena	Calibrazione della Curva di Equazione	R ²	LOD (ng/μL)	LOQ (ng/μL)
C6:0	$y = 1.0577 x - 0.0361$	0.9981	0.039	0.13
C8:0	$y = 0.9553 x - 0.0331$	0.9979	0.029	0.09
C10:0	$y = 0.5214 x - 0.0184$	0.9978	0.01	0.03
C12:0	$y = 0.4063 x - 0.0113$	0.9989	0.031	0.1



Risultati - MCFA



Distribuzione (ng/μL) di ogni MCFA nei gruppi in esame. Box vuoti : livelli fetali, box rigati: i livelli materni. I risultati del test post hoc di Bonferroni (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; ***: $p < 0.001$).

MCFA

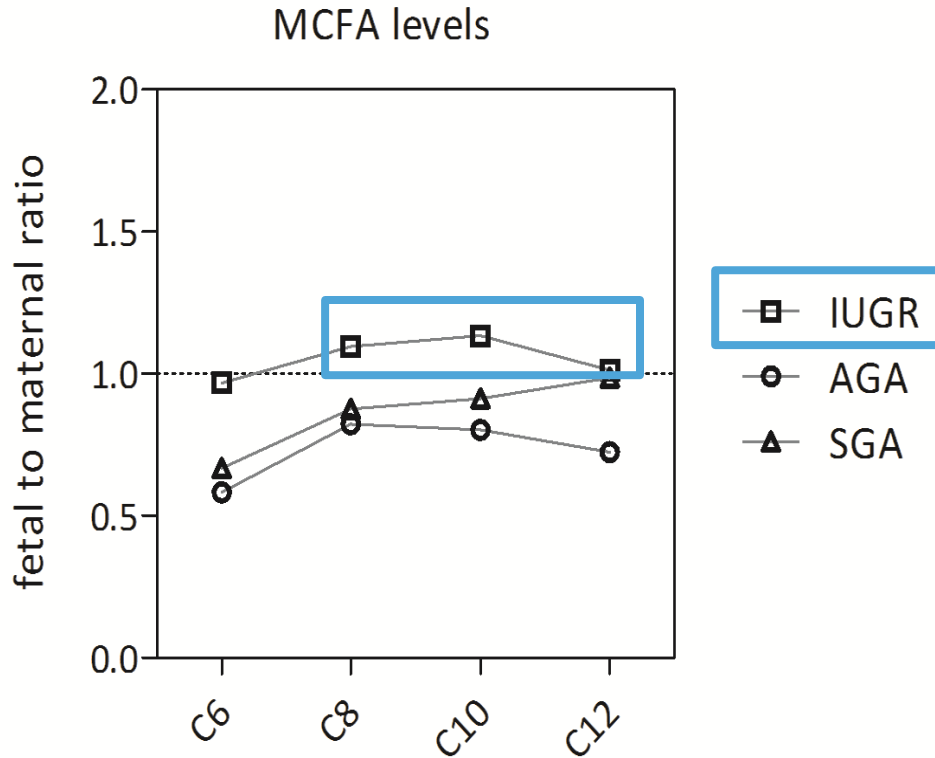
Livelli plasmatici materni e fetali superiori per gruppo

SGA

Differenze statisticamente significative al confronto SGA - IUGR e SGA - AGA

Non differenze statisticamente significative AGA-IUGR

Risultati - MCFA



IUGR
Rapporto F/M > 1

Rapporto tra concentrazioni feto-materne per C6:0, C8:0, C10:0 and C12:0 nei gruppi in esame.



Risultati - LCFA

Acidi Grassi	Feto				Madre			
	AGA	IUGR	SGA	Analisi Statistica	AGA	IUGR	SGA	Analisi Statistica
<i>C14:0</i>	4.1 ± 1.8	3.7 ± 1.9	4.7 ± 1.9	<i>ns</i>	8.3 ± 4.2	7.7 ± 8.3	13.4 ± 9.5	<i>ns</i>
<i>C14:1</i>	0.08 ± 0.06	0.09 ± 0.06	0.11 ± 0.09	<i>ns</i>	1.1 ± 1.1	0.78 ± 1.2	0.16 ± 0.13	<i>b</i>
<i>C16:0</i>	168.1 ± 58.8	215.4 ± 70.5	520.0 ± 143.3	<i>b, c</i>	344.6 ± 166	257.7 ± 166.8	968.8 ± 639.9	<i>b, c</i>
<i>C16:1</i>	35.1 ± 23.5	31.7 ± 17.2	5.6 ± 5.8	<i>ns</i>	146.2 ± 103.3	108.8 ± 82.3	13.2 ± 14.3	<i>b, c</i>
<i>C18:0</i>	101.7 ± 41.8	141.4 ± 46.7	363.3 ± 124.5	<i>b, c</i>	124.6 ± 43.0	119.3 ± 65.1	436.5 ± 181.2	<i>b, c</i>
<i>C18:1</i>	3.1 ± 2.2	2.2 ± 1.3	72.7 ± 80.9	<i>ns</i>	7.9 ± 5.4	6.1 ± 6.8	414.0 ± 423.6	<i>b, c</i>
<i>C18:2</i>	9.1 ± 6.3	12.1 ± 10.7	15.2 ± 13.7	<i>ns</i>	49.1 ± 29.4	30.7 ± 24.9	144.1 ± 200.8	<i>c</i>
<i>C20:0</i>	0.26 ± 0.14	0.47 ± 0.17	0.39 ± 0.15	<i>ns</i>	0.61 ± 0.17	0.47 ± 0.32	0.42 ± 0.12	<i>ns</i>
<i>C20:1</i>	0.06 ± 0.03	0.08 ± 0.07	0.1 ± 0.09	<i>ns</i>	0.11 ± 0.07	0.11 ± 0.16	0.59 ± 0.73	<i>b, c</i>
<i>C22:0</i>	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.05	0.07 ± 0.01	<i>ns</i>	0.07 ± 0.04	0.07 ± 0.08	0.09 ± 0.02	<i>ns</i>

I dati sono espressi come media ± DS. *ns*, ANOVA differenze non significative. Test post hoc di Bonferroni : *a*, AGA - IUGR; *b*, AGA - SGA; *c*, IUGR - SGA.

Discussione

MCFA plasmatici MF **SGA > AGA e IUGR**

↑ **Richiesta metabolica dei feti SGA**



↑ **Mobilizzazione MCFA materni**



Gradiente diffusione (Rapporto FM < 1)



↑ **Livelli plasmatici MCFA fetali**



*...ma cosa
accade,
a livello
metabolico,
nel feto IUGR?*

Intrauterine Growth Restriction Is Associated with Changes in Polyunsaturated Fatty Acid Fetal–Maternal Relationships

IRENE CETIN, NICCOLÒ GIOVANNINI, GIOIA ALVINO, CARLO AGOSTONI, ENRICA RIVA, MARCELLO GIOVANNINI, AND GIORGIO PARDI

ture neonates. We studied whether fetal–maternal fatty acid relationships are already impaired *in utero* in IUGR fetuses. Fetal (F) and maternal (M) fatty acid profiles were determined *in utero* in 11 normal [appropriate for gestational age (AGA)] and in 10 IUGR fetuses by fetal blood sampling (FBS) between 19 and 39 wk. Total plasma fatty acid concentrations were significantly

normal pregnancies, in IUGR the F/M ratios for the relative amounts of DHA and AA were significantly lower than in normal pregnancies. One of the benefits of studying samples obtained *in utero* is the possibility of having control samples of similar gestational age as the IUGR, as data obtained at delivery are usually at different gestational ages between AGA and IUGR. However, similar results had been previously reported in a group of less severe small for gestational age fetuses studied at delivery after 34 wk (30). Our data show that the proportion of the LC-PUFA metabolites AA and DHA to their precursors LA and α LA, respectively, was significantly decreased in fetal plasma of IUGR pregnancies relative to maternal plasma. In the last several years, evidence has accumulated suggesting that deficits of AA and DHA contribute to the neural and vascular complications of preterm infants. LC-PUFA are constituents of the lipid bilayer and changes in their supply could provide the biochemical basis for the membrane disorders that characterize prematurity leading to immediate consequences such as intraventricular hemorrhage and retinopathy (31). These changes could also be associated with poor vascular development and the long-term consequences associated with IUGR (2–4).

Nei feti IUGR viene a mancare il fenomeno della **BIOMAGNIFICAZIONE** di **DHA** e **AA**

- Inadeguato trasporto placentare
- Sistemi enzimatici inefficienti



AMBIENTE BIOCHIMICO SFAVOREVOLE



COMPLICANZE NEUROLOGICHE E VASCOLARI

Comparison of the fatty acid composition of maternal blood and cord blood of mothers who delivered healthy full-term babies, preterm babies, and full-term small for gestational age infants

Rafał Bobiński¹, Monika Mikulska¹, Hanna Mojska² & Michał Simon³

The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 2013; 26(1): 96–102



chain FA, an increased Lauric acid (C12:0) level was observed in both the group of premature babies and also in the group of SGA neonates. The increased C12:0 levels in groups B and C may be a response to increased energy requirements of babies belonging to these groups, and the need for energy saving in this initial period during which some enzymatic systems of these infants are not yet fully developed [22–24]. Using C12:0 for the energetic purposes on the one hand saves valuable Adenosine-5'-triphosphate (ATP), which is used in the process of transporting C12:0 into the mitochondria and on the other hand, provides large amounts of energy through the β -oxidation process.

Table III. Statistically significant differences between fatty acids in cord blood from groups A, B, and C - $p < 0.05$.

	Group A	Group B	Group C	$p < 0.05$
C10:0	0.15	0.28	0.14	N
C12:0	0.31	0.63	0.56	Y (A:B, A:C)
C13:0	0.20	0.33	0.23	N
C14:0	1.03	1.24	1.19	N
C14:1	0.10	0.14	0.07	N

Utilizzo MCFA come **risposta adattativa all'ambiente intrauterino ostile** :

- Produzione di *energia* tramite β ossidazione
- Conversione a **DHA**

Aumentato rilascio di **MCFA** dai tessuti di **deposito fetale**



restrizione crescita fetale

Discussione

LCFA

- madri SGA > AGA e IUGR
- Feti C16:0 e C18:0 SGA > IUGR, SGA > AGA;
- Feti IUGR > AGA (*non statisticamente significativo*)

Table 2. Maternal and fetal plasma lipid concentrations

Fatty acids ($\mu\text{g/mL}$)	AGA		IUGR	
	Mothers	Fetuses	Mothers	Fetuses
C _{14:0}	21.72 \pm 8.07	3.51 \pm 2.29†	22.04 \pm 14.59	4.52 \pm 2.72*
C _{16:0}	580.76 \pm 152.54	154.06 \pm 67.47†	633.78 \pm 220.00	195.84 \pm 56.14†
C _{18:0}	123.66 \pm 44.91	60.29 \pm 29.32†	158.66 \pm 48.32	69.94 \pm 19.05†
C _{20:0}	2.78 \pm 1.54	1.15 \pm 0.80†	3.62 \pm 1.86	1.77 \pm 0.69†

Cetin I, et al. *Pediatr Res.* 2002;52:750–5.

Dati contrastanti:
necessità di
ulteriori studi sul
ruolo di LCFA

Table III. Statistically significant differences between fatty acids in cord blood from groups A, B, and C – $p < 0.05$.

	Group A	Group B	Group C	$p < 0.05$
C10:0	0.15	0.28	0.14	N
C12:0	0.31	0.63	0.56	Y (A:B, A:C)
C13:0	0.20	0.33	0.23	N
C14:0	1.03	1.24	1.19	N
C14:1	0.10	0.14	0.07	N
C15:0	0.26	0.30	0.23	N
C15:1	0.49	0.43	0.32	N
C16:0	25.79	25.81	26.62	N
C16:1t	0.95	0.85	0.74	N
C16:1c	3.74	4.39	3.07	N
C17:0	0.24	0.25	0.23	N
C17:1	0.26	0.17	0.05	N
C18:0	9.48	9.11	7.52	Y (A:C)

Bobiński R, et al. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013 Jan;26(1):96-102.

Conclusioni

1. **MCFA** nel plasma materno e fetale \neq in gravidanze **SGA** e **IUGR**.
2. **Dati inattesi** dal pdv **lipidomico** sul metabolismo SGA e IUGR:
fisiopatologia totalmente diversa e ancora sconosciuta.
3. **Profilo LCFA**: riscontro solo in parte nella letteratura.
Necessario ulteriore studio trasporto e sintesi *de novo* nel ritardo di crescita intrauterino.

APPLICAZIONI FUTURE

MCFA plasmatici materni:
*nuovo marker per DD
accurata e precoce
tra SGA e IUGR?*

