



GRUPPO DI STUDIO INTERASSOCIATIVO AMD-SID DIABETE E GRAVIDANZA

Comitato di Coordinamento

Coordinatore. Ester Vitacolonna

Coordinatore eletto. Elisabetta Torlone

Consiglieri. Camilla Festa, Cristina Lencioni, Marina Scavini, Elena Succurro, Andrea Tumminia

Presidente SID

Presidente AMD

POSITION STATEMENT

Integratori vitaminici, inositolo e probiotici nelle donne con iperglicemia in gravidanza.

A cura di

Camilla Festa, Elena Succurro, Federica Fraticelli, Maria Masulli, Cristina Lencioni, Marina Scavini, Andrea Tumminia, Sara Parrettini, Elisabetta Torlone, Ester Vitacolonna

Si ringrazia per il supporto la Prof. Angela Rivellese e la Dott. Rosalba Giacco (Coordinatore Gruppo di Studio Diabete e Nutrizione AMD, SID, ADI)

Introduzione

Le vitamine sono composti organici essenziali per il normale sviluppo e funzionamento dell'organismo. Il fabbisogno giornaliero di tali sostanze è generalmente minimo, è espresso nell'ordine di milligrammi o microgrammi ed esse vengono incluse tra i micronutrienti.

Le vitamine sono comunemente suddivise in due gruppi: liposolubili (vitamina A, D, E, K) e idrosolubili (vitamine del gruppo B, compreso l'acido folico, vitamina H, PP e C). Le prime si possono accumulare nell'organismo, mentre le seconde, se in eccesso, vengono facilmente eliminate.

Una sana e corretta alimentazione, che si avvalga della varietà nutrizionale e che rispetti la stagionalità e la freschezza dei cibi consumati, permette generalmente di coprire i fabbisogni di tali sostanze. Tuttavia, stati carenziali, detti ipovitaminosi, possono subentrare in seguito a inadeguata assunzione vitaminica o in condizioni di aumentato fabbisogno, ad esempio durante la gravidanza, o secondariamente ad alcune patologie o ad alcolismo cronico che ne inibiscono o riducono l'assorbimento. In caso di deficit è indicato ripristinare le adeguate quantità vitaminiche mediante l'alimentazione o facendo ricorso a specifici integratori.

Gli integratori alimentari, secondo il testo di legge italiano del 30/07/2004, sono definiti come *“i prodotti alimentari destinati ad integrare la comune dieta e che costituiscono una fonte concentrata di sostanze nutritive, quali le vitamine e i minerali, o di altre sostanze aventi un effetto nutritivo o fisiologico, in particolare ma non in via esclusiva aminoacidi, acidi grassi essenziali, fibre ed estratti di origine vegetale, sia monocomposti che pluricomposti, in forme predosate”*. Il testo regola anche in termini di etichettatura, chiarezza dei messaggi pubblicitari, controlli e sanzioni.

È fondamentale promuovere un uso appropriato degli integratori e di micronutrienti, sottolineare che gli stessi non devono essere intesi come sostituti di una dieta sana e bilanciata e la supplementazione non deve eccedere le dosi giornaliere raccomandate.

La gravidanza rappresenta una condizione fisiologica della vita della donna in cui bisogna prestare particolare attenzione a soddisfare i fabbisogni nutrizionali della futura madre, per preservare al meglio la salute della stessa e il frutto del concepimento. Occorre pertanto evitare sia gli stati carenziali sia gli eccessi dei vari nutrienti, tra cui le vitamine. Come riportato nella revisione sistematica Cochrane del 2017 *“Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy”* (Haider BA, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Apr 13;4:CD004905) nei Paesi a basso e medio reddito molte donne presentano, infatti, un'alimentazione inadeguata che comporta un deficit in macro e micronutrienti. Questa carenza diventa più marcata in corso di gravidanza a causa delle aumentate richieste materno-fetali, con una possibile influenza sullo stato di salute della madre e del figlio. Possibili benefici a basso costo si potrebbero ottenere mediante l'uso di micronutrienti multipli.

Il presente documento si focalizza su alcuni composti che hanno mostrato una rilevanza nell'ambito del metabolismo dei carboidrati. Nello specifico vengono riportate le attuali evidenze circa il ruolo delle vitamine D e B12 e della supplementazione con acido folico, in relazione alla gravidanza e al diabete gestazionale (GDM). Inoltre, viene analizzata l'efficacia dell'uso dell'inositolo, dei probiotici e degli acidi grassi poliinsaturi (PUFA) in gravidanza e nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM.

ACIDO FOLICO

CHE COSA È E COME FUNZIONA

Acido folico e folati sono **vitamine del gruppo B** (denominati anche **vitamina B9**). Con il termine **folati** ci si riferisce ai composti presenti naturalmente negli alimenti (es. arance, mandarini, clementini, asparagi, broccoli, cavoli, carciofi, indivia, bieta, spinaci, legumi, cereali integrali e frutta secca), mentre con il termine **acido folico** (acido monopteroliglutammico o pterolimonoglutammico) si intende la molecola di sintesi chimica rintracciabile nei supplementi vitaminici e negli alimenti fortificati (1). L'acido folico, dopo l'assunzione, viene ridotto nel 5metiltetraidrofolato, forma biologicamente attiva della vitamina e coenzima di molteplici reazioni metaboliche (1).

I folati alimentari sono di fatto scarsamente utilizzabili perché instabili e sensibili al calore, alla luce, all'aria e all'acidità, perdono la loro biodisponibilità durante la lavorazione degli alimenti, la loro preparazione domestica (come cottura e conservazione) e l'assorbimento (2).

Nell'organismo umano, l'acido folico e i folati rivestono un ruolo importante poiché partecipano alla sintesi di molecole quali DNA, RNA e proteine, alla formazione dell'emoglobina e sono essenziali per quelle cellule e tessuti che vanno incontro a processi di proliferazione e differenziazione (es. tessuti embrionali). Per questo è fondamentale che venga garantito all'embrione un adeguato apporto di questi composti fin dal concepimento (3).

ACIDO FOLICO E GRAVIDANZA

Nel primo trimestre di gravidanza, in particolare tra la terza e la quarta settimana, il rapidissimo accrescimento embrionale aumenta sensibilmente il fabbisogno di acido folico. Come noto, il deficit di acido folico in questa fase della gravidanza, associato o meno ad una predisposizione genetica, determina nel prodotto del concepimento un aumento di difetti congeniti sia a carico del tubo neurale (Neural Tube Defects o NTD) che di altri distretti. Gli NTD sono il risultato di un'imperfetta chiusura del tubo neurale nel corso dello sviluppo del cervello e del midollo spinale. La chiusura del tubo neurale si completa entro il 28° giorno dall'inizio dell'embriogenesi (42 giorni di gestazione) (4). Per questo motivo, i livelli materni di acido folico devono essere adeguati prima ancora che la gravidanza abbia inizio. Concentrazioni di acido folico di 906 nMol nei globuli rossi correlano con una più bassa incidenza di NTD (5), quali anencefalia, spina bifida ed encefalocele.

Due RCT (6,7), divenuti pietre miliari, hanno dimostrato che la regolare supplementazione con acido folico intrapresa almeno un mese prima del concepimento, riduce il rischio NTD del 70%, nonché di altri difetti congeniti quali cardiopatie e labio-palatoschisi. Una revisione sistematica Cochrane del 2001 ha quantificato una riduzione del rischio relativo di NTD del 72% (95% CI 47%-85%) e una riduzione assoluta del rischio dello 0.8 per 1000 (8).

In Italia si stima che la prevalenza dei NTD sia circa lo 0,55 per 1000 nati. Una recente indagine dell'ISS, effettuata in tre ospedali della regione Lazio, ha però valutato che meno del 20% delle 562 donne intervistate aveva fatto uso di acido folico nella fase preconcepimento e periconcepimento, nonostante l'80% delle gravidanze esaminate fosse stata una gravidanza programmata (9).

La World Health Organization (WHO) ha stimato che ogni anno, nel mondo, muoiono più di 300.000 bambini entro le prime 4 settimane di vita a causa di un difetto congenito, tra cui NTD (10). La maggior parte di questi bambini nasce nei paesi in via di sviluppo (circa il 94%) da madri malnutrite e/o esposte ad agenti teratogeni quali alcool e tabacco. Altri fattori di rischio noti sono l'insufficienza o la deficienza di

micronutrienti, patologie materne come il diabete, il sovrappeso e l'obesità, nonché l'uso di alcuni farmaci in gravidanza (11).

L'azione benefica dell'acido folico sembra esplicarsi anche rispetto ad altri outcomes: uno studio cinese condotto su 10000 donne arruolate prima della 20ma settimana di gestazione, ha osservato una riduzione del rischio di preeclampsia nelle donne che ricevevano la supplementazione con acido folico rispetto a quelle che non lo assumevano (OR=0.61, 95% CI: 0.43-0.87) con un andamento "durata-dipendente" (12). Risultati analoghi erano stati ottenuti da Bodnar e Hernández-Díaz in due differenti studi di coorte in cui si osservava una riduzione del rischio del 45% per la preeclampsia e per l'ipertensione gestazionale (13,14) in donne che avevano fatto uso di acido folico fino alla 10-16ma settimana di gestazione.

La riduzione del rischio era ancora maggiore quando la supplementazione con acido folico veniva proseguita fino alla fine del secondo trimestre (15). Altri studi non hanno però confermato tali risultati (16) osservando in qualche caso addirittura un incremento del rischio di preeclampsia (OR: 1.11, 95% CI: 1.04, 1.18) nelle donne che assumevano acido folico nelle consuete dosi all'inizio della gravidanza (17).

ACIDO FOLICO E DIABETE

Donne con diabete con uno scarso controllo glicemico nel primo trimestre hanno un rischio dieci volte maggiore di incidenza di NTD (18). Diabete ed obesità sono riconosciuti come fattori di rischio indipendenti per i NTD (19-21).

Nel 2013 uno studio retrospettivo condotto da Parker et al. (18) su circa 10000 donne, mostrava che l'effetto combinato di diabete e ridotto intake di acido folico e folati (<0,4 mg/die) aveva un impatto maggiore sul rischio di spina bifida (aOR di 3.95 CI: 1.56, 10.00) rispetto al solo diabete (aOR:1.31; CI: 0.17, 10.30). Analogamente la supplementazione con acido folico non eliminava l'aumentato rischio di NTD nelle obese: le donne con BMI maggiore di 30 kg/m² che non assumevano adeguate quantità di acido folico e folati presentavano un rischio di 2.43 (95%CI: 1.63, 3.63), sostanzialmente uguale a quelle che riportavano un alto intake di acido folico (OR 2.08 1.27, 3.39) (18).

QUANTO

Secondo i livelli di riferimento di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN 2014) elaborati dalla Società Italiana per la Nutrizione Umana (SINU), l'assunzione raccomandata (Population Reference Intake, PRI) in folati per la popolazione adulta generale si attesta a 0,4 mg/die (22). La PRI risulta aumentata durante la gravidanza (0,6 mg/die) e l'allattamento (0,5 mg/die) (22), per favorire le maggiori richieste materno-fetali e il necessario ripristino delle quantità perse con il latte materno (23).

La supplementazione di acido folico generalmente consigliata nelle donne in età fertile, che non escludono una gravidanza, è di 0,4 mg/die (5). Questo aumentato fabbisogno, non sempre ottenibile attraverso le sole modifiche dietetiche, potrebbe rendere necessario il ricorso a supplementi vitaminici o fortificazione alimentare (5, 24).

Il Network Italiano Promozione Acido Folico raccomanda a tutte le donne che programmano una gravidanza, o che non ne escludono attivamente la possibilità, oltre ad una sana e corretta alimentazione ricca in folati, di assumere regolarmente una supplementazione giornaliera di acido folico di almeno 0,4 mg, da intraprendere almeno un mese prima del concepimento e per tutto il primo trimestre di gravidanza al fine di ridurre il rischio di difetti neurali congeniti (25). In popolazioni specifiche di donne ad aumentato rischio di malformazioni (es. precedente gravidanza esitata in NTD, anamnesi familiare positiva per

malformazioni, diabete tipo 1, epilessia) si consiglia di incrementare la dose a 4,0-5,0 mg/die (25). L'assunzione giornaliera di 5 mg di acido folico è consigliata nei soggetti considerati a rischio, tra cui donne con diabete, anche dal Royal College of Obstetrics and Gynecologists (RCOG) (26).

I LARN 2014 fissano il livello massimo tollerabile di assunzione (Tolerable Upper Intake Level, UL) nei soggetti adulti di entrambi i sessi, comprese donne in gravidanza e allattamento, a 1 mg/die di acido folico sintetico (22) in accordo con le raccomandazioni del documento EFSA 2006 (27). Nel 2004, anche nel Bollettino d'informazione sui farmaci (AIFA-Ministero della Salute) si affermava, sulla base del principio di precauzione, che dosaggi di acido folico superiori a 1 mg/die dovevano essere valutati con attenzione, mentre dosaggi di 4-5 mg potevano essere consigliati solo a specifiche fasce di popolazione a rischio (28).

Dosi maggiori di acido folico non sono attualmente raccomandate in primo luogo perché non vi sono evidenze di ulteriori effetti nell'abbattere il rischio di NTD, in secondo luogo perché potrebbero mascherare un'eventuale deficit di vitamina B12 della madre con il rischio di sequele neurologiche. Tale condizione, precedentemente molto rara nelle donne in età fertile, è resa più frequente dalla sempre più diffusa pratica del veganesimo (29). L'integrazione con L-5-metiltetraidrofolato (L-5-methyl-THF) potrebbe presentare molteplici vantaggi rispetto a quella con acido folico sia riducendo l'effetto mascheramento nel deficit di B12 sia riportando minori interazioni con i farmaci inibitori della diidrofolato-reduttasi (30).

CATEGORIE A RISCHIO DI CARENZA DI ACIDO FOLICO

Vengono considerate categorie a rischio di carenza di acido folico le seguenti:

- **Diabete tipo 1 e tipo 2 (31)**
- **Obesità (31)**
- **Polimorfismi dei geni coinvolti nel metabolismo dell'acido folico (31):** alcuni polimorfismi della metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) sono associati ad una minor concentrazione di folato (32) e a un maggior rischio di NTD (33). In taluni casi sono stati riscontrati autoanticorpi antagonisti diretti contro i recettori dei folati (34).
- **Donne in terapia con farmaci ad attività antifolica:** carbamazepina, valproato, sulfamidici, metotrexate etc (31,35).
- **Donne in terapia con estroprogestinici:** una metanalisi condotta su 27 studi ha mostrato che le donne che assumono terapia orale anticoncezionale potrebbero necessitare di dosi maggiori di acido folico per raggiungere i livelli target (31,36).
- **Sindromi da malassorbimento:** Circa il 5% delle donne in età riproduttiva riporta in anamnesi malattie da malassorbimento quali il Morbo di Crohn in cui è ridotto l'assorbimento dell'acido folico a livello ileale (31,37)
- **Fumo**

QUANDO E PER QUANTO TEMPO

“Poiché i più comuni e gravi difetti congeniti insorgono tra il concepimento e l'8^a-12^a settimana di gestazione, è necessario che la supplementazione inizi almeno un mese prima del concepimento e prosegua per tutto il primo trimestre di gravidanza” (25,38).

In un'ottica di medicina personalizzata, è necessario considerare le variabilità interindividuali della farmacocinetica e della farmacodinamica dell'acido folico: studi recenti hanno concluso che in taluni casi il raggiungimento di una concentrazione di folato di 1500 nmol nei globuli rossi può aumentare, seppur limitatamente e con minimi benefici aggiuntivi, il grado di protezione dai NTD (39) e che la supplementazione con 0,4-0,9 mg/die può non consentire il raggiungimento della concentrazione target di acido folico in molti soggetti (40). Tale fallimento terapeutico potrebbe essere ascritto alla profonda variabilità temporale nel raggiungimento dello steady-state, che in alcuni soggetti può richiedere oltre 1 anno con 1 mg di acido folico (31). Ancor più interessante è la diversa efficacia della supplementazione nel portare a target i valori di acido folico nel siero e nei globuli rossi: alte dosi di acido folico (5 mg) aumentano livelli sierici di 5 volte rispetto all'integrazione con 1 mg, ma di sole 2 volte nei globuli rossi (41).

L'assunzione giornaliera di folati deve iniziare preferibilmente tre mesi prima del concepimento (e comunque almeno un mese prima del concepimento) e proseguita almeno per i primi tre mesi di gravidanza.

EFFETTI AVVERSI

Recentemente è stata ipotizzata una relazione tra la concentrazione di folati e l'aumentata incidenza di neoplasie, sebbene i dati disponibili in letteratura siano controversi. Alcuni studi sul cancro del colon-retto hanno identificato un dualismo nell'effetto dell'acido folico su queste neoplasie (42,43). In condizioni fisiologiche l'acido folico svolgerebbe un'azione protettiva, al contrario, quando già sussiste una displasia, l'eccesso di folato potrebbe innescare la replicazione cellulare e quindi la trasformazione della displasia in neoplasia (42).

Per quanto concerne la supplementazione in gravidanza, studi condotti su ampie coorti descrivono un effetto neutro o addirittura protettivo sull'incidenza di tumori dell'età pediatrica, nei nati da madri supplementate con acido folico (44-45). Analogamente non è stata osservata alcuna associazione tra la supplementazione con acido folico in una o più gravidanze ed il rischio generico di insorgenza di neoplasie nelle donne, sebbene, considerati il follow-up a breve-medio termine, la scarsa specificità di informazioni circa la quantità e la durata della supplementazione di questi studi, nonché la complessa relazione biologica tra tumore e acido folico, tali risultati non possono essere considerati conclusivi (46-47).

EPIGENETICA E ACIDO FOLICO

Come è noto, l'ambiente intrauterino ha un ruolo nella modulazione dell'espressione genica del feto. Tale effetto si esplica principalmente mediante la metilazione del DNA e la modificazione degli istoni e può essere determinato direttamente o indirettamente. La presenza dell'acido folico come cofattore nella sintesi dei due principali metaboliti coinvolti in questo processo (l'S-adenosilmetionina o SAM e l'S-adenosilomocisteina o SAH, rispettivamente un donatore di metili e un inibitore della metiltrasferasi) (48-50), rende plausibile che ridotti livelli di questa vitamina possano essere implicati in una disregolazione dell'espressione genica del feto.

In tal senso, studi su modelli umani ed animali hanno mostrato effetti epigenetici dell'acido folico, come l'incremento della metilazione del gene per l'IGF2 (insulin-like growth factor 2) associata ad un minor peso alla nascita nei bambini nati da madri con supplementazione di acido folico nella fase di concepimento (51). È inoltre ipotizzato che la stessa azione sui NTD sia in parte ascrivibile ad una regolazione di questo tipo: topi prone allo sviluppo di NTD trattati con acido folico mostravano una ridotta metilazione dell'istone 3 dei promoters per i geni Hes1 e Neurog2, fondamentali per la neurogenesi (52).

CONCLUSIONI

In tutte le donne, la supplementazione con acido folico iniziata preferibilmente tre mesi prima del concepimento (e comunque almeno un mese prima del concepimento) e proseguita per i primi tre mesi di gravidanza previene i difetti congeniti del tubo neurale e di altri distretti; tale pratica è sicura ed è vantaggiosa (Livello I, Forza A).

Le donne ad elevato rischio di NTD, tra le quali le donne affette da diabete, dovrebbero assumere 4 -5 mg di acido folico/die (livello IV, Forza A).

Sarebbe auspicabile un programma nazionale di informazione (attraverso i maggiori mezzi di comunicazione, i social network, le scuole, le università) che possa raggiungere tutte le donne in età fertile. Qualora tale strategia di sensibilizzazione non si mostrasse efficace in termini di aumento della compliance delle donne, potrebbe essere valutata l'ipotesi della cosiddetta "fortificazione" di cereali e legumi, come accaduto in USA ed in Canada. A tal proposito, però, il nostro Paese mantiene un profilo prudentiale, attenendosi alla regolamentazione europea e ammettendo solo la fortificazione volontaria (50).

Non esistono dati che associano l'utilizzo dei folati con il rischio di diabete gestazionale oppure con il controllo glicemico nella donna diabetica in gravidanza.

ACIDO FOLICO: SUMMARY BOX

- La supplementazione con acido folico preferibilmente tre mesi prima del concepimento (e comunque almeno un mese prima del concepimento) è raccomandata per tutte le donne.
- Tale supplementazione è sicura e vantaggiosa sia per la madre che per il figlio.
- Le donne ad elevato rischio di NTD, tra le quali le donne affette da diabete, dovrebbero assumere 4-5 mg di acido folico/die.
- Attualmente non sono state identificate correlazioni fra impiego di acido folico e rischio di diabete gestazionale e/o controllo glicemico.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Istituto Superiore di Sanità (ISS). Acido folico e folati prima di una gravidanza. Acido folico e folati: vitamine per la vita. <http://www.iss.it/acid/index.php?id=183&tipo=10&lang=1>

2. Epicentro. Acido folico e folati. <http://www.epicentro.iss.it/problemi/folico/folico.asp>
3. Istituto Superiore di Sanità (ISS). Acido folico e folati prima di una gravidanza. Acido folico e folati: vitamine per la vita. <http://www.iss.it/acid/index.php?lang=1&id=181&tipo=10>
4. Botto LD, Moore CA, Khoury MJ, Erickson JD. Neural-tube defects. *N Engl J Med*. 1999 Nov 11;341(20):1509-19.
5. Daly LE, Kirke PN, Molloy A, Weir DG, Scott JM. Folate levels and neural tube defects. Implications for prevention. *JAMA*. 1995;274(21):1698-702.
6. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*. 1991 Jul 20;338(8760):131-7
7. Czeizel AE, Dudás I. Prevention of the first occurrence of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Engl J Med*. 1992 Dec 24;327(26):1832-5.
8. Lumley J, Watson L, Watson M, Bower C. Periconceptional supplementation with folate and/or multivitamins for preventing neural tube defects. *Cochrane Database Syst Rev*. 2001;(3):CD001056.
9. Maraschini A, D'Aloja P, Lega I, Buoncristiano M, Kirchmayer U, Ventura M, Donati S. Do Italian pregnant women use periconceptional folate supplementation? *Ann Ist Super Sanita*. 2017 Apr-Jun;53(2):118-124.
10. World Health Organization. Congenital anomalies. [accessed August 15, 2014]; Factsheets. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs370/en/>
11. Agopian AJ, Tinker SC, Lupo PJ, Canfield MA, Mitchell LE; National Birth Defects Prevention Study. Proportion of neural tube defects attributable to known risk factors. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2013 Jan;97(1):42-6.
12. Wang Y, Zhao N, Qiu J, He X, Zhou M, Cui H, Lv L, Lin X, Zhang C, Zhang H, Xu R, Zhu D, Dang Y, Han X, Zhang H, Bai H, Chen Y, Tang Z, Lin R, Yao T, Su J, Xu X, Liu X, Wang W, Ma B, Liu S, Qiu W, Huang H, Liang J, Wang S, Ehrenkranz RA, Kim C, Liu Q, Zhang Y. Folic acid supplementation and dietary folate intake, and risk of preeclampsia. *Eur J Clin Nutr*. 2015 Oct;69(10):1145-50.
13. Bodnar LM, Tang G, Ness RB, Harger G, Roberts JM. Periconceptional multivitamin use reduces the risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol*. 2006 Sep 1;164(5):470-7.
14. Hernandez-Diaz S, Werler MM, Louik C, Mitchell AA. Risk of gestational hypertension in relation to folic acid supplementation during pregnancy. *Am J Epidemiol*. 2002 Nov 1;156(9):806-12.
15. Wen SW, Chen XK, Rodger M, White RR, Yang Q, Smith GN, et al. Folic acid supplementation in early second trimester and the risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Jan;198(1):45.e1-7.
16. Catov JM, Nohr EA, Bodnar LM, Knudson VK, Olsen SF, Olsen J. Association of periconceptional multivitamin use with reduced risk of preeclampsia among normal-weight women in the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol*. 2009 Jun 1;169(11):1304-11.
17. Li Z, Ye R, Zhang L, Li H, Liu J, Ren A. Folic acid supplementation during early pregnancy and the risk of gestational hypertension and preeclampsia. *Hypertension*. 2013 Apr;61(4):873-9.

18. Parker SE, Yazdy MM, Tinker SC, Mitchell AA, Werler MM. The impact of folic acid intake on the association among diabetes mellitus, obesity, and spina bifida. *Am J Obstet Gynecol.* 2013; 209(3):239.e1–8
19. Waller DK, Shaw GM, Rasmussen SA, Hobbs CA, Canfield MA, Siega-Riz A-M, Gallaway MS, Correa A; National Birth Defects Prevention Study. Prepregnancy Obesity as a Risk Factor for Structural Birth Defects. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2007 Aug;161(8):745-50.
20. Shaw GM, Velie EM, Schaffer D. Risk of neural tube defect-affected pregnancies among obese women. *JAMA.* 1996 Apr 10;275(14):1093-6.
21. Watkins ML, Rasmussen SA, Honein MA, Botto LD, Moore CA. Maternal obesity and risk for birth defects. *Pediatrics.* 2003 May;111(5 Pt 2):1152-8.
22. SINU (Società Italiana Nutrizione Umana). LARN, 2014. <http://www.sinu.it/html/cnt/larn.asp>
23. Ministero della Salute. Acido folico e gravidanza... prima è meglio! http://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_3_1_1.jsp?menu=dossier&p=dadossier&id=26
24. Daly S, Mills JL, Molloy AM, Conley M, Lee YJ, Kirke PN, Weir DG, Scott JS. Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural tube defects. *Lancet.* 1997 Dec6;350(9092):1666-9.
25. Network Italiano Promozione Acido Folico per la Prevenzione Primaria di Difetti Congeniti. RACCOMANDAZIONE PER LA RIDUZIONE DEL RISCHIO DI DIFETTI CONGENITI <http://www.iss.it/binary/acid4/cont/raccomandazione.pdf>
26. Healthy eating and vitamin supplements in pregnancy. www.rcog.org.uk/globalassets
27. European Food Safety Authority. Scientific Committee on Food Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. TOLERABLE UPPER INTAKE LEVELS FOR VITAMINS AND MINERALS. 2006. http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa_rep/blobserver_assets/ndatolerableuil.pdf
28. AIFA - Ministero della Salute. Acido Folico: Prove di efficacia e considerazioni utili per la riduzione del rischio di malformazioni congenite. Bolletino d'informazione sui farmaci. XI 2 2004. <http://www.bellitti.it/AcidoFolicoeDifettiCongeniti-MinisterodellaSalute.pdf>
29. Campbell NR. How safe are folic acid supplements? *Arch Intern Med.* 1996 Aug 12-26;156(15):1638-44.
30. Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet.* 2010 Aug;49(8):535-48
31. Chitayat D, Matsui D, Amitai Y, et al. Folic acid supplementation for pregnant women and those planning pregnancy: 2015 update. *J Clin Pharmacol.* 2016 Feb;56(2):170-5.
32. Crider KS, Zhu JH, Hao L, Yang QH, Yang TP, Gindler J, Maneval DR, Quinlivan EP, Li Z, Bailey LB, Berry RJ. MTHFR 677C->T genotype is associated with folate and homocysteine concentrations in a large, population-based, double-blind trial of folic acid supplementation. *Am J Clin Nutr.* 2011 Jun;93(6):1365-72.
33. Yan L, Zhao L, Long Y, Zou P, Ji G, Gu A, Zhao P. Association of the maternal MTHFR C677T polymorphism with susceptibility to neural tube defects in offsprings: evidence from 25 case-control studies. *PLoS One.* 2012;7(10):e41689.

34. Rothenberg SP, da Costa MP, Sequeira JM, et al. Autoantibodies against folate receptors in women with a pregnancy complicated by a neural-tube defect. *N Engl J Med*. 2004 Jan 8;350(2):134-42.
35. Matok I, Gorodischer R, Koren G, Landau D, Wiznitzer A, Levy A. Exposure to folic acid antagonists during the first trimester of pregnancy and the risk of major malformations. *Br J Clin Pharmacol*. 2009;68(6):956–961
36. Shere M, Bapat P, Nickel C, Kapur B, Koren G. Association between folate status and use of oral contraceptives: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynaecol Can*. 2015 May;37(5):430-438.
37. Steger GG, Mader RM, Vogelsang H, Schöfl R, Lochs H, Ferenci P. Folate absorption in Crohn's disease. *Digestion* 1994; 55(4):234–8.
38. Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. Practice Bulletin No. 187: Neural Tube Defects. *Obstet Gynecol*. 2017 Dec;130(6):e279-e290.
39. Crider KS, Devine O, Hao L, et al. Population red blood cell folate concentrations for prevention of neural tube defects: Bayesian model. *BMJ*. 2014 Jul 29;349:g4554
40. Wald NJ, Law MR, Morris JK, Wald DS. Quantifying the effect of folic acid. *Lancet*. 2001 Dec 15;358(9298):2069-73.
41. Nguyen P, Boskovic R, Yazdani P, Kapur B, Vandenberghe H, Koren G. Comparing folic acid pharmacokinetics among women of childbearing age: single dose ingestion of 1.1 versus 5 mg folic acid. *Can J Clin Pharmacol*. 2008 Summer;15(2):e314-22.
42. Kim Y. Folic acid fortification and supplementation--good for some but not so good for others. *Nutr Rev*. 2007 Nov;65(11):504-11.
43. Ulrich CM, Potter JD. Folate supplementation: too much of a good thing? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006 Feb;15(2):189-93.
44. Mortensen JH, Øyen N, Fomina T, Melbye M, Tretli S, Vollset SE, Bjørge T. Supplemental folic acid in pregnancy and childhood cancer risk. *Br J Cancer*. 2016 Jan 12;114(1):71-5.
45. Metayer C, Milne E, Dockerty JD, Clavel J, Pombo-de-Oliveira MS, Wesseling C, Spector LG, Schuz J, Petridou E, Ezzat S, Armstrong BK, Rudant J, Koifman S, Kaatsch P, Moschovi M, Rashed WM, Selvin S, McCauley K, Hung RJ, Kang AY, Infante-Rivard C. Maternal supplementation with folic acid and other vitamins and risk of leukemia in offspring: a Childhood Leukemia International Consortium study. *Epidemiology*. 2014 Nov;25(6):811-22.
46. Mortensen JH, Øyen N, Fomina T, Melbye M, Tretli S, Vollset SE, Bjørge T. Supplemental folic acid in pregnancy and maternal cancer risk. *Cancer Epidemiol*. 2015 Dec;39(6):805-11.
47. Vollset S.E., Clarke R., Lewington S., Ebbing M., Halsey J., Lonn E., et al. Effects of folic acid supplementation on overall and site-specific cancer incidence during the randomised trials: meta-analyses of data on 50 000 individuals. *Lancet*. 2013 Mar 23;381(9871):1029-36.
48. Hoffman DR, Marion DW, Cornatzer WE, Duerre JA. S-Adenosylmethionine and S-adenosylhomocystein metabolism in isolated rat liver. Effects of L-methionine, L-homocystein, and adenosine. *J Biol Chem*. 1980 Nov 25;255(22):10822-7.

49. James SJ, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Caudill MA. Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation: potential epigenetic mechanism for homocysteine-related pathology. *J Nutr.* 2002 Aug;132(8 Suppl):2361S-2366S.
50. Yi P, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Hine RJ, James SJ. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *J Biol Chem.* 2000 Sep 22;275(38):29318-23.
51. Steegers-Theunissen RP, Obermann-Borst SA, Kremer D, Lindemans J, Siebel C, Steegers EA, Slagboom PE, Heijmans BT. Periconceptional maternal folic acid use of 400 microg per day is related to increased methylation of the IGF2 gene in the very young child. *PLoS One.* 2009 Nov 16;4(11):e7845.
52. Ichi S, Costa FF, Bischof JM, Nakazaki H, Shen YW, Boshnjaku V, Sharma S, Mania-Farnell B, McLone DG, Tomita T, Soares MB, Mayanil CS. Folic acid remodels chromatin on Hes1 and Neurog2 promoters during caudal neural tube development. *J Biol Chem.* 2010 Nov 19;285(47):36922-32.
53. Epicentro. Acido folico e folati: Che cos'è la fortificazione di un alimento? <http://www.epicentro.iss.it/problemi/folico/Fortificazione.asp>

VITAMINA B12

COSA È E COME FUNZIONA

La Vitamina B12 (denominata anche Cobalamina) è una vitamina idrosolubile del gruppo B. È coinvolta nel metabolismo cellulare, in particolare nella sintesi del DNA, nella metilazione e nel metabolismo mitocondriale (1).

Le principali fonti nutrizionali sono gli alimenti di origine animale. In particolare, si reperisce in carne, fegato, latte e derivati di ruminanti in cui la flora intestinale sintetizza la cobalamina che viene immagazzinata nei muscoli e nel fegato o secreta attraverso il latte dell'animale (2).

La vitamina B12 viene rilasciata dalle proteine alimentari per azione peptica e si lega all'aptocorrina (HC) a livello gastrico. Una volta trasportata nel duodeno, le proteasi pancreatiche digeriscono l'HC e rilasciano la cobalamina (Cbl) che così può legarsi al fattore intrinseco (FI). Il complesso FI-Cbl, legandosi ad uno specifico recettore nell'ileo distale, viene internalizzato nella cellula e quindi rilasciato esternamente e nel torrente ematico. Durante questo processo la Cbl si stacca dal FI per potersi legare a due proteine di trasporto: HC e transcobalamina (TC) (3). La maggior quota di vitamina B12 è immagazzinata nel fegato, mentre una minore quantità viene escreta nella bile ed è sottoposta a circolazione enteroepatica (1).

Nei paesi sviluppati, l'intake di vitamina B12 risulta generalmente adeguato a soddisfare il fabbisogno dell'organismo (2). Tuttavia, si può assistere a stati deficitari con deplezione delle riserve causati da inadeguato apporto, ridotta biodisponibilità o malassorbimento (1).

I fattori eziologici che si associano a stati carenziali sono:

1. Autoimmunità: produzione di autoanticorpi diretti contro il fattore intrinseco (FI), proteina secreta dalle cellule parietali della mucosa gastrica, che, legandosi alla cobalamina, ne

permette l'assorbimento. All'inibita attività del FI consegue, quindi, un ridotto assorbimento di vitamina B12 a livello dell'ileo terminale e una condizione comunemente denominata "anemia perniciosa" (4).

2. Malassorbimento che può avvenire: a livello gastrico, sede della produzione del FI, in seguito ad interventi chirurgici (es. bypass gastrico, gastrectomia totale o parziale) (1,4) o a gastrite atrofica (1); a livello dell'ileo terminale, in seguito ad interventi chirurgici, patologie (es. celiachia) o infezioni parassitarie (es. *Diphyllobothrium latum*) con interessamento dell'intestino tenue (4).
3. Inadeguato apporto nutrizionale: malnutrizione, diete vegetariane o vegane, abuso cronico di alcool possono determinare un intake e/o un assorbimento inadeguato di vitamina B12 (1,4). In merito a questo punto, Pawlak e coll., in una revisione sistematica della letteratura (5), hanno osservato una maggiore carenza di vitamina B12 nei soggetti che seguivano una dieta vegana senza assunzione di integratori e consumo di cibi fortificati con questa vitamina, rispetto ai soggetti che aderivano ad altri tipi di diete vegetariane; la revisione mostrava, inoltre, una maggiore prevalenza di deficit nei soggetti che seguivano una dieta vegana di tipo "restrittivo". Queste evidenze indicano la necessità di consigliare ai vegetariani, e soprattutto ai vegani, di considerare l'uso di integratori di vitamina B12 per garantirne un'adeguata assunzione e prevenirne la carenza (5).
4. Malattie pancreatiche o pancreasectomia;
5. Utilizzo di farmaci che riducono l'assorbimento della vitamina (es. colestiramina e metformina);
6. Patologie ereditarie;
7. Altro: tra cui l'infezione da HIV e l'anestesia di ossido di azoto (1).

Stati carenziali di vitamina B12 si possono osservare a tutte le età, benché sembri essere più frequente nei soggetti anziani, la prevalenza di malassorbimento associato a gastrite atrofica ed anemia perniciosa (6). Il deficit di vitamina B12 si associa generalmente a manifestazioni ematologiche (anemia megaloblastica) e neurologiche (es. mieloneuropatia da deficit di vitamina B12) (1,4). Altri sintomi clinici includono fatica, debolezza, costipazione, perdita di appetito, perdita di peso, difficoltà a mantenere equilibrio, depressione, confusione, demenza o scarsa memoria, ecc. (5).

VITAMINA B12 E DIABETE

Una revisione del 2015 ha analizzato la relazione esistente tra diabete mellito di tipo 2 (T2DM) e vitamine (7). Relativamente alla vitamina B12, se da un lato i risultati circa l'utilità di una supplementazione per la riduzione del rischio di sviluppare la patologia diabetica sembrano essere controversi, dall'altro si ipotizza che un deficit di questa vitamina si associ a stress ossidativo e iperomocistemia (8), con possibile aumento del rischio di complicanze, specie di neuropatia diabetica (9).

Alcuni studi hanno dimostrato che il protratto uso della metformina in soggetti con diabete favorisca il malassorbimento della cobalamina con conseguente rischio di deficit vitaminico, iperomocistemia e quindi complicanze; pertanto Valdés-Ramos e coll. raccomandano una supplementazione di vitamina B12 in questi pazienti (7).

In uno studio (10) condotto su un campione rappresentativo della popolazione statunitense (National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES) tra il 1999 e il 2006, gli autori concludevano che la terapia con metformina era associata ad una maggiore prevalenza di carenza biochimica di vitamina B12 e che l'assunzione raccomandata (2,4 µg) dall' Institute of Medicine (IOM) e la quantità più comunemente disponibile nei multivitaminici (6 µg) potesse non essere sufficiente per correggere stati carenziali nei soggetti T2DM in trattamento con metformina. La ricerca si era posta l'obiettivo di analizzare la prevalenza della carenza biochimica di vitamina B12 negli adulti (età ≥50 anni) con T2DM in trattamento con metformina (N = 575) rispetto a quelli con T2DM che non assumevano il farmaco (N = 1046) e i soggetti senza diabete (N = 6867), e di verificare l'azione svolta dalla supplementazione con vitamina B12. Il deficit vitaminico ($B_{12} \leq 148$ pmol/L) era presente nel 5,8% dei soggetti con diabete in trattamento con metformina rispetto al 2,4% di quelli che non usavano il farmaco ($P = 0,0026$) e 3,3% dei soggetti senza diabete ($P = 0,0002$). Tra i soggetti diabetici, l'uso di metformina era associato a carenza biochimica di vitamina B12 (OR aggiustato 2.92; 95% CI 1.26–6.78), ma non è stato osservato alcun aumento significativo della prevalenza di stati carenziali in base all'aumento della durata dell'uso di metformina. Inoltre, l'integrazione con vitamina B12 al dosaggio > 0–6 µg ha mostrato una riduzione di due terzi del deficit vitaminico tra i soggetti senza diabete, ma non nei soggetti con diabete che assumevano metformina.(10).

Un recente studio (11) condotto su 150 soggetti suddivisi in 5 gruppi in base alla presenza o meno di diabete e al regime terapeutico seguito, non ha osservato alcuna differenza significativa nei livelli sierici di vitamina B12 nei pazienti con e senza diabete (517.62 vs 433.83 pg/ml $P = 0.072$), né alcuna differenza nei livelli di vitamina B12 tra i soggetti trattati con metformina e quelli naïve al trattamento (503.4 vs 462.3 pg/ml $P = 0.380$). Il lavoro conclude, pertanto, che non è possibile formulare una raccomandazione universale per lo screening delle carenze di vitamina B12 (11).

In un'analisi post hoc di un trial randomizzato controllato è stata studiata l'associazione tra metformina, acido metilmalonico (MMA) e punteggio validato di neuropatia (NPS) in un campione di 390 soggetti diabetici tipo 2 insulino-trattati (n=196 assegnati al gruppo metformina e n=194 placebo per 52 mesi). I risultati hanno mostrato che la metformina riduce i livelli sierici di vitamina B12 e aumenta progressivamente quelli di MMA (95% CI: 0.019 a 0.055, $p=0.001$) con peggioramento dell'NPS, ma nel contempo può proteggere dalla neuropatia per l'effetto ipoglicemizzante (abbassamento dell'HbA1c). Questi dati suggeriscono la necessità di un monitoraggio dei livelli di vitamina B12 nei soggetti sottoposti a lunghi periodi di trattamento col farmaco (12).

In altre pubblicazioni, come lo studio osservazionale di de Groot-Kamphuis et al non è stato riscontrato un aumentato rischio di anemia o neuropatia nei soggetti che facevano uso di metformina, rispetto ai non utilizzatori, nonostante il maggior deficit rilevato di vitamina B12 (13).

Una recente revisione della letteratura, basandosi sui risultati di studi clinici che hanno dimostrato l'effetto potenziale del farmaco metformina sulla riduzione della vitamina B12, e considerando la neuropatia periferica (PN) una complicanza primaria del T2DM, sottolinea il bisogno di esaminare il complesso legame tra il deficit di vitamina B12, l'uso della metformina e la PN nei pazienti con T2DM, specie alla luce dei risultati di precedenti lavori apparsi talvolta contraddittori (14).

Uno studio condotto su 154 soggetti con T2DM (54 vegetariani e 100 onnivori) si è proposto di valutare l'associazione esistente tra lo stato di vitamina B12 con lo stress ossidativo e i markers infiammatori. È stata riscontrata una maggiore prevalenza di deficit di vitamina B12 nei soggetti vegetariani e, nello studio, è stato posto il valore di 250 pmol/L come cut-off del livello di vitamina B12. I soggetti con diabete vegetariani che presentavano livelli più elevati di vitamina B12 risultavano avere valori di glicemia a digiuno ed HbA1c significativamente più bassi, nonché una maggiore attività enzimatica antiossidante rispetto ai soggetti con livelli vitaminici più bassi (glicemia a digiuno, $p < 0,05$; HbA1c, $p = 0,02$) e agli onnivori (glicemia

a digiuno, $p = 0,01$; HbA1c, $p = 0,04$). I diabetici onnivori che presentavano livelli più elevati di vitamina B12 mostravano markers legati allo stress ossidativo (MDA, $p = 0,06$) e all'infiammazione (IL-6, $p = 0,04$) significativamente più bassi rispetto ai soggetti con livelli minori di vitamina B12 e ai vegetariani (MDA, $p = 0,01$; hs-CRP, $p = 0,03$; IL-6, $p = 0,02$), nonché un'attività enzimatica antiossidante significativamente più alta (SOD, $p = 0,04$) rispetto ai vegetariani. Questi risultati suggeriscono la necessità di un attento monitoraggio dei livelli di vitamina B12 nei pazienti con diabete, specie se seguono una dieta vegetariana (15).

VITAMINA B12 E GRAVIDANZA

I cambiamenti fisiologici e anatomici che durante la gravidanza interessano i vari distretti (es. emodiluizione, modificazioni dei livelli ormonali e della concentrazione delle proteine leganti la cobalamina) determinano variazioni sostanziali della concentrazione dei marcatori biochimici normalmente utilizzati per valutare lo stato vitaminico del soggetto (1,16).

In corso di gravidanza, specie nell'ultimo periodo, si assiste ad una riduzione graduale dei livelli plasmatici di vitamina B12 accompagnata ad un aumento dei livelli plasmatici di acido metilmalonico (MMA) e omocisteina (17), possibile biomarker di un esaurimento metabolico di vitamina B12 intracellulare (1).

Nel periodo periconcezionale e in corso di gravidanza uno stato carenziale di cobalamina, così come di folati, aumenta il rischio di spina bifida e di altri difetti del tubo neurale nel neonato (18) e può associarsi ad aumentato rischio di aborto spontaneo (19). Il deficit di vitamina B12 concorre, in presenza di iperomocisteinemia, all'incremento del rischio di pre-eclampsia (20) e parto prematuro (21). Nei soggetti deficitari o a rischio di ridotto intake/assorbimento, occorre pertanto prendere in considerazione l'uso di una adeguata integrazione periconcezionale (17).

VITAMINA B12 E DIABETE GESTAZIONALE

In un recente studio condotto su 913 donne asiatiche in gravidanza, Lai e coll. hanno esaminato l'associazione osservata tra le concentrazioni ematiche di vitamina B12, B6, folati e omocisteina con la diagnosi di GDM e i valori della glicemia. I risultati mostravano come maggiori concentrazioni di vitamina B12 e omocisteina erano associati a più bassi livelli di glicemia a digiuno e postprandiale e a minore rischio di sviluppare GDM. Maggiori probabilità di GDM si riscontravano nelle donne con insufficienti livelli di vitamina B12 ($<221\text{pmol/L}$) associati ad alte concentrazioni di folato [OR: 1,97 (1,05, 3,68)] (22).

Quest'ultimo dato riprende le conclusioni dello studio condotto in India da Krishnaveni et al. (23) in cui la carenza di vitamina B12 materna è risultata essere associata ad aumentata adiposità, e ad aumento dell'insulino-resistenza e GDM, specialmente in presenza di alte concentrazioni di folato. Lo studio ha coinvolto 785 donne in gravidanza, prevedendo anche un follow-up a 5 anni: è stato riscontrato un deficit di vitamina B12 ($<150\text{pmol/L}$) nel 43% dei soggetti in corso di gravidanza. Le donne con carenza di vitamina B12 presentavano un più alto indice di massa corporea ($p<0,001$), maggiore spessore delle pliche cutanee ($p<0,001$), insulino-resistenza ($p = 0,02$) e incidenza di GDM (8,7% vs 4,6%; OR = 2,14, $p = 0,02$; $p = 0,1$ dopo aggiustamento per BMI) rispetto alle donne non carenti. L'incidenza di GDM aumentava con la concentrazione di folato. Al follow-up a 5 anni, la carenza di vitamina B12 in corso di gravidanza era predittiva di un aumento delle pliche cutanee, dell'insulinoreistenza ($p<0,05$), dell'incidenza di diabete (OR 5.2, 95% CI 1.7 – 15.8, $p = 0,02$, dopo aggiustamento per BMI attuale) e di sindrome metabolica (OR 1.6, 95% CI 1.1 – 2.4). Lo studio ha evidenziato le possibili implicazioni tra un livello non adeguato di vitamina B12 e folati in gravidanza ed il rischio metabolico materno, sottolineando la necessità di ulteriori studi e

politiche sanitarie preventive volte ad elaborare le necessarie indicazioni sulla supplementazione vitaminica in fase pre e post concepimento (23).

Tali risultati sono stati confermati successivamente da uno studio retrospettivo (24) che ha valutato in un campione di 344 donne (di cui 143 affette da GDM), lo stato della vitamina B12 e del folato in gravidanza in relazione all'obesità materna, alla diagnosi di GDM e al peso del neonato alla nascita. Le donne con insufficienti livelli di vitamina B12 (<150 pmol/L) avevano una maggiore probabilità di essere obese (aOR 2.40, 95% CI 1.31, 4.40, $p = 0,004$) ed affette da GDM (OR non corretto per BMI 2.59, 95%CI 1.35, 4.98, $p = 0,004$). Nelle donne senza GDM, il quartile più basso di vitamina B12 e quello più alto di folato presentavano un rischio aggiustato significativamente maggiore di macrosomia fetale (RR 5.3 95%CI 1.26, 21.91, $p = 0,02$ e 4.99 95%CI 1.15, 21.62, $p = 0,03$ rispettivamente). Inoltre, le donne con insufficienti livelli di vitamina B12, presentavano un BMI più alto rispetto alle altre (30.9 ± 7.56 vs 28.0 ± 7.30 kg/m², $p < 0.05$) nel 1° trimestre. I risultati ottenuti hanno permesso di concludere che i livelli materni di vitamina B12 sono associati al BMI, al rischio di GDM e alla macrosomia fetale, in soggetti senza GDM, effetti in parte mediati dal BMI della madre. I risultati non hanno permesso, però, di dimostrare la causalità o la direzionalità del rapporto esistente tra i suddetti fattori. Inoltre, la mancata rilevazione di parametri quali l'omocisteina, l'MMA o l'olotranscobalamina, ha rappresentato un limite dello studio nel determinare le soglie di sufficienza vitaminica in corso di gravidanza. Sono pertanto necessarie ulteriori ricerche volte a comprendere l'interazione tra la vitamina B12 e gli outcomes analizzati, per offrire in gravidanza interventi mirati alla salute metabolica materno-fetale e fronteggiare il crescente costo dell'obesità materna e del GDM (24).

Allo stato attuale, non sono stati condotti trials sull'uomo per valutare l'effetto della supplementazione con vitamina B12 sulla prevenzione e/o il trattamento del GDM.

QUANTO

Secondo i livelli di riferimento di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN 2014) (25), elaborati dalla Società Italiana per la Nutrizione Umana (SINU), l'assunzione raccomandata (population reference intake, PRI) di vitamina B12 si attesta a 2,4 µg/die per i soggetti dai 15 anni in poi; fabbisogni inferiori sono invece raccomandati nei bambini e adolescenti fino ai 14 anni. La PRI risulta aumentata durante la gravidanza (2,6 µg /die) e l'allattamento (2,8 µg /die). Nei lattanti (6-12 mesi) l'assunzione adeguata (AI) è posta a 0,7 µg/die (25).

Le raccomandazioni italiane sono in accordo con quelle dello IOM (Institute of Medicine), che ha fissato a 2,4 µg/die per i soggetti maschi e femmine dai 14 anni in poi, a 2,6 µg /die in gravidanza e 2,8 µg /die in allattamento, la dose dietetica di vitamina B12 raccomandata (Recommended Dietary Allowances/RDAs). L'assunzione adeguata (AI) raccomandata per i lattanti si attesta a 0,4 µg/die (0-6 mesi) e 0,5 µg/die (7-12 mesi) e riflette l'assunzione media di vitamina osservata nei neonati alimentati principalmente con il latte umano (26).

Relativamente al livello massimo tollerabile di assunzione (UL) il LARN e lo IOM concordano che l'evidenza scientifica non consente di definire l'UL per nessuno dei gruppi di interesse (25,26). I dati consegnati in letteratura sugli effetti avversi dell'assunzione di vitamina B12 sono stati, di fatto, considerati insufficienti a determinare una valutazione dose-risposta in grado di stabilire il livello massimo tollerabile. Inoltre, gli studi revisionati dallo IOM non sembrano aver mostrato rischi di effetti avversi, per la popolazione sana, a seguito di una sovrassunzione di vitamina B12 da fonti nutrizionali o da integratori, benché gli stessi non siano stati condotti per questo preciso scopo (26).

VITAMINA B12 ED EPIGENETICA

Un recente lavoro ha ipotizzato che in gravidanza bassi livelli di vitamina B12 possano influire sullo sviluppo del tessuto adiposo a causa dell'alterata circolazione dei microRNAs (miRs), mediatori epigenetici che controllano la differenziazione adipocitaria, da cui consegue un fenotipo metabolico avverso. Lo studio ha, infatti, dimostrato che bassi livelli di B12 in gravidanza alterano i miRNA circolanti adiposi, che possono mediare un fenotipo adipogenico e insulino-resistente che conduce all'obesità e predispone a successivi disturbi metabolici per le madri e i figli (27).

Roy et coll. (28) partendo da precedenti studi condotti sui ratti in gravidanza, in cui dimostravano che una dieta materna non bilanciata in micronutrienti (specie in vitamina B12 e acido folico) esprimeva effetti sul metabolismo degli acidi grassi, sui modelli di metilazione globale e sui livelli di neurotrofine cerebrali della progenie alla nascita, hanno voluto valutare se questi effetti fossero mediati dallo stress ossidativo e l'eventuale influenza di quest'ultimo sui meccanismi epigenetici e la programmazione fetale. Nello studio pubblicato nel 2014 (28) i risultati hanno confermato l'ipotesi secondo cui l'aumento dello stress ossidativo e le alterazioni nella difesa antiossidante cerebrale si associno alla riduzione dei livelli di neurotrofine con successive implicazioni sullo sviluppo di disturbi psichiatrici e deficit cognitivi (28). In studi precedenti era stato inoltre dimostrato che un'adeguata supplementazione materna con acidi grassi omega3 fosse in grado di ripristinare i normali livelli di neurotrofine (29). Questi risultati sono di fondamentale importanza per la pianificazione di strategie di intervento volte alla prevenzione di disturbi dello sviluppo neurologico.

CONCLUSIONI

Studi osservazionali sembrano suggerire un'associazione tra bassi livelli di Vitamina B12 e il rischio di sviluppare GDM (Livello III, Forza C).

Non esistono, tuttavia, nell'uomo evidenze relative alla supplementazione di Vitamina B12 nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM.

Soprattutto nei soggetti a rischio è opportuno indagare uno stato di carenza che potrebbe essere determinato dall'aumentato fabbisogno della vitamina in gravidanza e durante il puerperio e che potrebbe peggiorare l'outcome della gravidanza stessa.

VITAMINA B12: SUMMARY BOX

- Studi osservazionali sembrano suggerire un'associazione tra bassi livelli di Vitamina B12 e rischio di outcome materno-fetali avversi, tra cui il GDM.
- Attualmente non esistono, nell'uomo, evidenze relative alla supplementazione di Vitamina B12 nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 29;3:17040.
2. Gille D, Schmid A. Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutr Rev*. 2015 Feb;73(2):106-15.
3. Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013;368:149-60.
4. Ankar A, Bhimji SS. Vitamin, B12 (Cobalamin), Deficiency. [Updated 2017 Jun 20]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017 Jun-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441923>
5. Pawlak R, Lester SE, Babatunde T. The prevalence of cobalamin deficiency among vegetarians assessed by serum vitamin B12: a review of literature. *Eur J Clin Nutr*. 2014 May;68(5):541-8.
6. Wong CW. Vitamin B12 deficiency in the elderly: is it worth screening? *Hong Kong Med J*. 2015 Apr;21(2):155-64.
7. Valdés-Ramos R, Guadarrama-López AL, Martínez-Carrillo BE, Benítez-Arciniega AD. Vitamins and type 2 diabetes mellitus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2015;15(1):54-63.
8. Al-Maskari MY, Waly MI, Ali A, Al-Shuaibi YS, Ouhtit A. Folate and vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia promote oxidative stress in adult type 2 diabetes. *Nutrition*. 2012 Jul;28(7-8):e23-6.
9. Jianbo L, Yuche C, Ming S, Jingrong T, Qing D, Yu Z, Jiawei C, Hongxing W. Association of homocysteine with peripheral neuropathy in Chinese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011 Jul;93(1):38-42.
10. Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley GP Jr. Association of biochemical B₁₂ deficiency with metformin therapy and vitamin B₁₂ supplements: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care*. 2012 Feb;35(2):327-33.
11. Rodríguez-Gutiérrez R, Montes-Villarreal J, Rodríguez-Velver KV, González-Velázquez C, Salcido-Montenegro A, Elizondo-Plazas A, González-González JG. Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency: Untangling the Association. *Am J Med Sci*. 2017 Aug;354(2):165-171.
12. Out M, Kooy A, Lehert P, Schalkwijk CA, Stehouwer CDA. Long-term treatment with metformin in type 2 diabetes and methylmalonic acid: Post hoc analysis of a randomized controlled 4.3year trial. *J Diabetes Complications*. 2017 Nov 8. pii: S1056-8727(17)30980-7.
13. de Groot-Kamphuis DM, van Dijk PR, Groenier KH, Houweling ST, Bilo HJ, Kleefstra N. Vitamin B12 deficiency and the lack of its consequences in type 2 diabetes patients using metformin. *Neth J Med*. 2013 Sep;71(7):386-90.
14. Ahmed MA, Muntingh GL, Rheeder P. Perspectives on Peripheral Neuropathy as a Consequence of Metformin-Induced Vitamin B12 Deficiency in T2DM. *Int J Endocrinol*. 2017;2017:2452853.

15. Lee YJ, Wang MY, Lin MC, Lin PT. Associations between Vitamin B-12 Status and Oxidative Stress and Inflammation in Diabetic Vegetarians and Omnivores. *Nutrients*. 2016 Feb 26;8(3):118.
16. Murphy MM, Molloy AM, Ueland PM, Fernandez-Ballart JD, Schneede J, Arija V, Scott JM. Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status in healthy women and their offspring. *J Nutr*. 2007 Aug;137(8):1863-7.
17. Milman N, Byg KE, Bergholt T, Eriksen L, Hvas AM. Cobalamin status during normal pregnancy and postpartum: a longitudinal study comprising 406 Danish women. *Eur J Haematol* 2006;76:521–5.
18. Groenen PM, van Rooij IA, Peer PG, Gooskens RH, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Marginal maternal vitamin B12 status increases the risk of offspring with spina bifida. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 Jul;191(1):11-7.
19. Molloy AM, Kirke PN, Brody LC, Scott JM, Mills JL. Effects of folate and vitamin B12 deficiencies during pregnancy on fetal, infant, and child development. *Food Nutr Bull*. 2008 Jun;29(2 Suppl):S101-11; discussion S112-5.
20. Mujawar SA, Patil VW, Daver RG. Study of serum homocysteine, folic Acid and vitamin b(12) in patients with preeclampsia. *Indian J Clin Biochem*. 2011 Jul;26(3):257-60.
21. Ronnenberg AG, Goldman MB, Chen D, Aitken IW, Willett WC, Selhub J, Xu X. Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. *Am J Clin Nutr*. 2002 Dec;76(6):1385-91.
22. Lai JS, Pang WW, Cai S, Lee YS, Chan JK, Shek LP, Yap FK, Tan KH, Godfrey KM, van Dam RM, Chong YS, Chong MF. High folate and low vitamin B12 status during pregnancy is associated with gestational diabetes mellitus. *Clin Nutr*. 2017 Mar 24. pii: S0261-5614(17)30113-9.
23. Krishnaveni GV, Hill JC, Veena SR, Bhat DS, Wills AK, Karat CL, Yajnik CS, Fall CH. Low plasma vitamin B12 in pregnancy is associated with gestational 'diabesity' and later diabetes. *Diabetologia*. 2009 Nov;52(11):2350-8.
24. Sukumar N, Venkataraman H, Wilson S, Goljan I, Selvamoni S, Patel V, Saravanan P. Vitamin B12 Status among Pregnant Women in the UK and Its Association with Obesity and Gestational Diabetes. *Nutrients*. 2016 Dec 1;8(12). pii: E768.
25. SINU (Società Italiana Nutrizione Umana). LARN, 2014. <http://www.sinu.it/html/cnt/larn.asp>.
26. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1998.
27. Adaikalakoteswari A, Vatish M, Alam MT, Ott S, Kumar S, Saravanan P. Low vitamin B12 in pregnancy is associated with adipose derived circulating miRs targeting PPAR γ and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Nov 1;102(11):4200-4209.

28. Roy S, Sable P, Khaire A, Randhir K, Kale A, Joshi S. Effect of maternal micronutrients (folic acid and vitamin B12) and omega 3 fatty acids on indices of brain oxidative stress in the offspring Brain Dev. 2014 Mar;36(3):219-27.
29. Sable PS, Dangat KD, Joshi AA, Joshi SR. Maternal omega 3 fatty acid supplementation during pregnancy to a micronutrient-imbalanced diet protects postnatal reduction of brain neurotrophins in the rat offspring. Neuroscience. 2012 Aug 16;217:46-55.

VITAMINA D

COS'È E COME FUNZIONA

La vitamina D è una vitamina liposolubile, assimilata ad un vero e proprio ormone liposolubile, derivato da due composti naturali: l'ergocalciferolo o Vitamina D₂, di derivazione vegetale e il colecalciferolo o Vitamina D₃, di derivazione endogena nell'animale. Oltre ai noti effetti sul metabolismo calcio-fosforo, la vitamina D possiede numerosi effetti extrascheletrici, partecipando alla regolazione di più di 200 geni (1,2).

La vitamina D proviene da:

1. Sintesi endogena: la maggior fonte di vitamina D nell'uomo deriva dall'esposizione alla luce del sole. Questo tipo di vitamina D ha un'emivita circa due volte maggiore rispetto alla vitamina D introdotta con la dieta (3). Molti fattori riducono la produzione di vitamina D da parte della pelle: la pigmentazione cutanea (i soggetti con la pelle scura necessitano di una maggiore esposizione al sole per ottenere lo stesso quantitativo di vitamina D), l'età, l'applicazione di creme solari (una protezione solare fattore 15 riduce la sintesi di vitamina D del 99%) (2, 4-7)
2. Dieta: Olio di fegato di merluzzo (400-1000 UI/cucchiaino), salmone, aringa (300-400 UI/100g), Uova (20 UI/tuorlo), funghi (2).

La produzione di Vitamina D dipende inoltre dall'altezza del sole e dalla latitudine: nella stagione invernale ad oltre il 35° di latitudine la produzione di Vitamina D è molto ridotta (5). Si precisa che 1 UI di Vitamina D corrisponde a 25 ng (2).

La maggior quota di vitamina D nell'uomo viene prodotta a partire dalla fotoconversione del 7-deidrocolesterolo in pre vitamina D₃, che a sua volta viene metabolizzata da fegato e reni rispettivamente in 25(OH)D₃ e 1 α ,25(OH)₂ D₃. Pur essendo principalmente stimolata dal PTH, l'1 α -idrossilasi è modulata positivamente anche da glucocorticoidi, PRL, GH, insulina estrogeni e progesterone. Oltre al rene anche la placenta, che è permeabile alla vitamina D, possiede una 1 α -idrossilasi efficiente (8).

I molteplici effetti della vitamina D si determinano mediante l'attivazione di uno specifico recettore (VDR), membro della superfamiglia dei recettori per gli ormoni steroidei e fattore di trascrizione per numerosi geni. L'attività trascrizionale viene modulata dal legame e dalla dimerizzazione del recettore per l'acido retinoico (RXR), mentre il trasporto della vitamina nei tessuti e la sua endocitosi sono affidati alla VD-binding protein (9). Polimorfismi dei geni implicati nei vari processi metabolici suddetti possono determinare una riduzione di livelli e/o dell'attività della vitamina, come suggerito in numerosi studi (10). L'aspetto interessante è che alcuni di questi stessi polimorfismi sono stati messi in relazione con il GDM (11).

VITAMINA D E DIABETE

L'identificazione di recettori per la vitamina D (VDR) nelle beta-cellule pancreatiche, nonché la loro capacità di sintetizzare l'1,25-diidrossivitamina D con attività paracrina (12,13), ha accresciuto l'interesse su una possibile relazione tra vitamina D e metabolismo glucidico. Studi su modelli umani ed animali hanno mostrato come la vitamina D partecipi alla modulazione della secrezione insulinica agendo sulle beta cellule pancreatiche sia direttamente mediante il proprio recettore (14) che indirettamente mediante la regolazione dell'omeostasi del calcio intra ed extracellulare (15,16).

In particolare, la secrezione insulinica stimolata dal glucosio e dalle sulfaniluree è ridotta nelle isole pancreatiche di ratti con deficienza della vitamina, così come nei topi knock-out per il VDR, i livelli di glucosio ed insulina sono rispettivamente più alti e più bassi rispetto ai topi wild-type, senza compromissione delle β cellule. È stato dimostrato, inoltre, che la somministrazione endovenosa di vitamina D nel ratto e nel coniglio migliora la risposta insulinica al carico di glucosio, mentre non sembra avere effetti sulla glicemia a digiuno. Si segnala come la condizione essenziale per avere i suddetti effetti è la normalità dei livelli di calcio (17). La vitamina D sembrerebbe stimolare anche l'espressione del recettore insulinico e amplificherebbe la risposta all'insulina del trasportatore del glucosio (18). Gli effetti immunomodulanti ed antinfiammatori noti della vitamina D potrebbero concorrere alla riduzione dell'insulinoresistenza agendo sullo stato infiammatorio di basso grado associato al diabete.

Degna di nota è l'esistenza di un'associazione inversa tra obesità e livelli di vitamina D (19): i soggetti con BMI > 30 kg/m² presentano infatti un rischio aumentato di ipovitaminosi D prevalentemente a causa del suo sequestro nel tessuto adiposo, essendo la vitamina D un composto liposolubile, e, a parità di esposizione alla luce solare, mostrano livelli di vitamina D pari al 50% dei soggetti non obesi. Uno studio americano (20) che ha dosato i livelli di 25(OH)D nel siero di 360 donne gravide e nel sangue da cordone ombelicale (rispettivamente 37.2 (11.2) e 23.4 (9.2) ng/ml) osservava un'associazione inversa tra i livelli di vitamina D materna ed il BMI; altra associazione era riscontrata tra il livello di vitamina D nel cordone ombelicale e BMI materno, seppur in minor grado dopo l'inclusione nell'analisi dei fattori confondenti; veniva quindi elaborato un modello matematico per cui per ogni kg/m² in più di BMI materno il valore di Vitamina D si riduce di 0,4 ng/ml nel siero materno e di 0.26 ng/ml nel sangue da cordone ombelicale; la glicemia a digiuno, l'insulinosensibilità e la presenza di GDM non risultavano associati ai livelli sierici di 25(OH)D materni. A tal proposito alcuni Autori spiegano diversamente questo fenomeno: i livelli di 25(OH)D nell'obeso non rifletterebero l'effettiva quantità di Vitamina D biodisponibile, ossia la forma non legata alla VD binding-protein e la vitamina legata all'albumina. Modificazioni dell'affinità o della quantità della VD binding-protein e quindi polimorfismi del gene che codifica per la suddetta proteina potrebbero influenzare la biodisponibilità della vitamina D. Negli obesi è stata osservata una riduzione della VD binding-protein con conseguente innalzamento della quota libera di vitamina D, che quindi risulterebbe al dosaggio standard della 25(OH)D falsamente negativa (21).

Dopo lo studio SUNNY (22), un RCT condotto su 275 pazienti con T2DM non in trattamento insulinico supplementati con 50000 UI di vitamina D al mese per 6 mesi, alcune metanalisi di studi eseguiti su pazienti con T2DM in discreto controllo glicemico hanno sostanzialmente confermato l'assenza di evidenze tali da poter consigliare l'assunzione della vitamina D per migliorare l'HbA1c, la glicemia a digiuno e l'HOMA-IR nei soggetti con T2DM in buono/discreto controllo metabolico; nei pazienti con HbA1c > 8% l'assunzione di vitamina D sembra avere un effetto positivo sulla glicemia a digiuno (23). Molto recentemente una metanalisi (24) condotta su 1528 soggetti con diabete tipo 2 supplementati con alte dosi di Vitamina D (minimo 4000 UI/die) ha mostrato una riduzione significativa dell'HbA1c dello -0.30% (95%CI -0.45 -0.15,

$P < 0.001$), della glicemia a digiuno di -4.9 mg/dL (95% CI: -8.1 -1.6 , $P = 0.003$) e dell' HOMA-IR di -0.66 ; (95% CI: -1.06 -0.26 , $P = 0.001$)(24).

Alcuni studi si sono occupati anche della relazione tra Diabete tipo 1 (T1DM) e vitamina, valutando l'esistenza di una possibile relazione tra il rischio di diabete tipo 1 e ipovitaminosi D nei bambini: in uno studio eseguito su una coorte di circa 30000 donne, il rischio di sviluppare T1DM nei nati da madre con ipovitaminosi (quartile più basso) risultava aumentato di più di due volte rispetto a quelli nati da donne con livelli di Vitamina D corrispondenti al quartile più alto (25). Uno studio svedese effettuato su una popolazione di più di 10.000 bambini dimostrava una riduzione dell'88% (RR of 0.22 (0.05–0.89)) del rischio di sviluppare T1DM nei bambini sottoposti a supplementazione con alte dosi di Vitamina D (2000 IU/die) durante il primo anno di vita (26).

VITAMINA D E GRAVIDANZA

Fisiologicamente, in gravidanza, a partire dal primo trimestre fino alla fine del terzo trimestre, i livelli di vitamina D aumentano progressivamente fino a due volte i valori basali, suggerendo un ruolo rilevante dell'ormone nella gestazione (27). Ciononostante, viene riportata una carenza sostanziale di vitamina D in gravidanza a livello globale: tra il 35% ed il 100% delle gravide in India, Australia, Cina, Svezia, Giappone, Spagna, USA, Oman, UK and Pakistan (28-37).

La carenza di vitamina D peggiora gli outcomes ostetrici: aumenta l'incidenza di taglio cesareo per complicanze intrapartum (38) e aumenta il rischio di preeclampsia (39,40).

In relazione agli outcomes fetali, i nati da madri con deficienza di vitamina D sono, in specifiche popolazioni, più spesso Small for Gestational Age (SGA) (41-43), con un OR, calcolato nell'analisi aggregata in una metanalisi su 31 studi, di 1.85 (CI 95% 1,52-2,26) (44). Infine, come dimostrato in una recente revisione sistematica Cochrane (45), la supplementazione con vitamina D sembra migliorare il peso alla nascita e ridurre il rischio di parto pretermine.

VITAMINA D E DIABETE GESTAZIONALE

Prevenzione

Numerosi studi hanno esplorato la possibilità che esista una relazione tra vitamina D e GDM e che una supplementazione precoce della vitamina possa prevenire l'insorgenza della malattia in donne più o meno a rischio. Due studi iraniani hanno ottenuto risultati positivi in tal senso: in un RCT (46) condotto su 90 donne, 46 trattate con 5000 UI/die di vitamina D e 44 controlli, è stata evidenziata una riduzione dell'incidenza di GDM, in donne con almeno 1 fattore di rischio, senza differenze in termini di outcomes materno-fetali (46); in uno studio condotto su circa 700 donne, di cui il 7% aveva sviluppato GDM, è stata documentata una più alta prevalenza della malattia nelle donne con ipovitaminosi di grado severo (<12.5 nmol/l), identificando una forte correlazione tra HOMA-IR e livelli di vitamina D (47).

Questi risultati venivano confermati da uno studio di coorte prospettico francese (48), condotto su 655 donne in gravidanza: bassi livelli di Vitamina D erano associati ad un maggior rischio di sviluppare GDM (OR 1.48, 95%CI 1.03–2.12), ad una maggiore insulinoresistenza (HOMA-IR: $r = -0.08$, $p = 0.03$) e ad una ridotta insulinosensibilità (Matzuda Index: $r = 0.13$, $p = 0.01$), ma non all'HOMA-B, indice di funzione β cellulare, e all'AUC ins/glu (48). Uno studio statunitense, quantificava il rischio di sviluppare GDM per le pazienti con

ipovitaminosi D in 2,66 volte (95% CI 1.01–7.02)(49) indipendentemente da altri fattori di rischio incluso il BMI; tale dato è stato confermato da uno studio caso controllo iraniano (50) e da un altro canadese (51) che, correggendo i risultati per età gestazionale e peso materno, riscontravano un rischio più che doppio di sviluppare GDM nelle donne con livelli sierici di vitamina D inferiori al quartile più alto della popolazione totale studiata (OR 2.21, 95% CI 1.19-4.13).

Alcuni studi condotti in USA, India, Polonia e Korea (52 -54, 39), al contrario, non riscontravano un'associazione tra ipovitaminosi D e rischio di GDM. Nel 2011 uno studio inglese pubblicato su *Diabetes Care* e condotto su circa 248 donne al primo trimestre di gravidanza, di cui 90 con successiva diagnosi di GDM, pur riscontrando una relazione inversa tra livelli sierici di vitamina D e glicemia a 2 ore dell'OGTT, non identificavano una differenza significativa in termini di 25-OH-D tra le donne che avrebbero ricevuto diagnosi di GDM (18.9 ng/mL (SD 10.7)) e coloro che erano rimaste normoglicotolleranti (19.0 ng/mL (10.7) (P = 0.874), anche dopo aver escluso fattori confondenti quali la stagione di collezionamento del campione (P = 0.784) (55).

In relazione all'intervento di supplementazione, nel 2014 Yap et al pubblicavano un RCT condotto su 179 donne in gravidanza con ipovitaminosi D (<32 ng/ml) documentata entro la 20ma settimana di gestazione: il trattamento con alte dosi di vitamina D (5000 UI/die) rispetto al supplemento con basse dosi (400 UI/die) non determinava una riduzione dell'incidenza di GDM, ma correggeva l'ipovitaminosi del neonato (56). Anche studi di coorte, come quello condotto da Rodriguez et al su 2400 donne in gravidanza, non hanno riscontrato un'associazione tra livelli di Vitamina D e rischio di GDM (33).

Alcuni studi riscontrano, inoltre, una relazione tra PTH e GDM piuttosto che tra Vitamina D e GDM: in 524 donne, di cui 142 GDM, 257 IGT/IFG, l'analisi di regressione logistica ha documentato che il terzo terzile di PTH era indipendentemente associato al GDM (OR = 1.82; 95% CI, 1.09-3.02; P=0.022) ed il deficit di vitamina D non ne era predittore significativo (57).

Tenendo conto dei suddetti discrepanti risultati, numerose metanalisi hanno cercato di far luce sull'argomento: nel 2012 Poel et al hanno calcolato che il rischio di sviluppare GDM nelle donne con livelli sierici di vitamina D ≤ 50 ng/ml fosse pari a 1.61 (95% CI 1.19–2.17; P = 0.002) rispetto a quelle con livelli più alti, risultato confermato dopo aver incluso nell'analisi l'età, il BMI e l'etnia (OR 1.84 (1.07–3.15); P = 0.03) (58). Tali dati venivano confermati negli anni successivi da altre due metanalisi: sia la prima, effettuata nel 2013 su 10 studi per un totale di 687 casi e 3425 controlli, che la seconda, effettuata nel 2015 su 20 studi, stabilivano una relazione tra ipovitaminosi D e rischio di sviluppare GDM (rispettivamente pooled OR 1,49 CI 1,18-1,88 e OR = 1.53; CI 95%, 1.33-1.75) (44,59).

Al fine di determinare l'effettiva efficacia della Vitamina D nella prevenzione del GDM, è stato disegnato un RCT multicentrico europeo di intervento precoce (prima della 20ma settimana di gravidanza) su donne a rischio di GDM ($BMI \geq 29$ (kg/m²) con vari bracci di intervento tra cui Healthy Eating+Physical Activity+Vitamin D e vitamina D da sola (DALI: Vitamin D and lifestyle intervention for gestational diabetes mellitus (GDM) prevention) (60). In attesa dei risultati del DALI sull'efficacia della vitamina D nella prevenzione del GDM, ci si comincia ad interrogare sul follow-up del Diabete Gestazionale: uno studio scandinavo, condotto su 376 donne con pregresso GDM, pur mostrando un'associazione tra deficit di vitamina D e gli indici di funzionalità della beta cellula e di insulino-resistenza, non evidenziavano correlazioni tra ipovitaminosi D con il rischio di sviluppare diabete dopo il parto (61); risultati ancor meno promettenti sono stati ottenuti da un RCT che documentava l'inefficacia della supplementazione con 700000 UI di Vitamina D assunte durante l'intera gravidanza in termini di OGTT negativo a 6-12 settimane dal parto in 96 gravidanze con 26 casi di GDM (62).

Trattamento

Esiste una esigua quantità di studi presenti in letteratura volti a valutare l'ipotesi che la supplementazione con Vitamina D possa coadiuvare la terapia standard del GDM. Un RCT cinese ha valutato gli effetti di differenti dosi di vitamina D su 133 donne con GDM trattate con dieta: le donne che ricevevano alte dosi di Vitamina D3 (50.000 IU ogni 2 settimane o 50.000 IU al mese sotto forma di 2000 UI o 4000 UI/die) mostravano una riduzione dell'HOMA-IR, della concentrazione di insulina e del colesterolo, mentre non ricevevano benefici in termini di livelli di glicemia a digiuno; è intellettualmente corretto specificare che tali risultati sono in parte inficiati dal fatto che, nonostante la randomizzazione, i due gruppi differivano per glicemia a digiuno, HOMA-B e QUICKI (quantitative insulin sensitivity check index) nella fase preintervento (63).

Risultati in parte analoghi venivano riportati da un piccolo RCT iraniano che riportava l'aumento del QUICKI ($+0.02 \pm 0.03$ vs -0.002 ± 0.02 , $p = 0.003$) e anche una riduzione significativa della glicemia a digiuno (-0.89 ± 0.69 vs $+0.26 \pm 0.92$ mmol/l, $p < 0.001$), dell'insulinemia (-13.55 ± 35.25 vs $+9.17 \pm 38.50$ pmol/l, $p = 0.02$) e dell'HOMA-IR (-0.91 ± 1.18 vs $+0.63 \pm 2.01$, $p = 0.001$) nelle donne con GDM trattate con 100000 UI totali di vitamina D3 dalla 24-28ma settimana di gestazione (64).

Uno studio osservazionale brasiliano condotto su 184 donne con GDM (65), metteva in relazione l'ipovitaminosi D (25(OH)D <20 ng/ml) con un rischio aumentato di ipoglicemia neonatale con ricovero in NICU (RR 3,63; 95% CI 1,09-12,11), oltre a confermare l'incremento del rischio di SGA (RR 4,32 (95% CI 1,75-10,66), noto anche nelle gravidanze fisiologiche.

La ricerca di base, infine, candida la placenta ad un ruolo chiave nella relazione tra vitamina D e diabete: confrontando la capacità di proliferare, migrare e formare tubuli delle endothelial colony forming cell (ECFCs) provenienti dal cordone di 18 donne con GDM rispetto a 19 controlli, si è osservata una ridotta performance delle cellule "GDM", che tuttavia veniva significativamente migliorata dall'esposizione alla Vitamina D (66). La valutazione dell'espressione del recettore per la vitamina D (VDR), del CYP27B1 e del CYP24A: il primo enzima deputato alla seconda idrossilazione della 25(OH)D e quindi alla sintesi della forma attiva, il secondo responsabile del suo catabolismo e quindi della sua inattivazione. Posto che l'85% delle 20 donne con GDM la cui placenta è stata analizzata risultava avere un deficit di vitamina D (25(OH)D <20 ng/mL) rispetto al 27,5% riportato nei 20 controlli, la produzione di CYP24A1 e l'espressione del suo RNA messaggero era significativamente più alta nella placenta delle donne con GDM, in assenza di differenze per il CYP27B1 e per il VDR, ad indicare come l'elevata attività dell'1 α -idrossilasi placentare tenti di sopperire al deficit vitaminico nelle donne con GDM (67).

QUANTO

Non c'è consenso circa il fabbisogno giornaliero di vitamina D. Lo IOM (Institute of Medicine) nel 2011 ha emanato le proprie raccomandazioni (68): la dose di vitamina D consigliata per la salvaguardia dell'osso ammonta a 600 UI/die da 1 a 70 anni, comprese le donne in gravidanza e in allattamento, e 800 UI/die per i soggetti più anziani, considerando che 100 UI di Vitamina D3 aumentano i livelli sierici di 25(OH) D approssimativamente di 1 ng/ml (69).

Lo IOM inoltre specificava che al momento del report non sussistevano evidenze circa la relazione causa-effetto tra vitamina D e outcomes extrascheletrici e che anzi per alcuni outcomes si osservava una curva ad U, ossia un rischio simile fra bassi ed alti valori di vitamina. Tale fabbisogno esaurirebbe le necessità del 97,5% della popolazione in condizioni di minima esposizione al sole. I livelli plasmatici di normalità della 25(OH)D suggeriti sono compresi tra 20 ng/ml (50 nmol/L) e 50 ng/ml (125 nmol/L), con un'assunzione

prolungata di massimo 4000UI/die (Upper Intake Levels, ULs), dai 9 anni di età in su, soglia oltre la quale aumentano i rischi di intossicazione (ipercalcemia, ipercalciuria, nefrolitiasi) ma anche quelli di mortalità, malattie cardiovascolari, cancro, fratture.

Lo IOM inoltre raccomanda il dosaggio dei livelli di 25OHD come marker quantitativo, ma non come indicatore di effetto.

Nel luglio dello stesso anno anche la Endocrine Society pubblicava le sue raccomandazioni sulla medesima rivista (70). In primo luogo, il range di normalità della 25(OH)D, anche in questo caso unico marker raccomandato, si discostano da quelli raccomandati dallo IOM: veniva stabilita come normale una concentrazione sierica ≥ 30 ng/ml (75 nmol/L), sottoclassificando il deficit vitaminico come insufficienza tra 21 e 29 ng/ml e deficienza ≤ 20 ng/ml (50 nmol/L).

Premesso ciò, 600 UI di vitamina D rappresenterebbero il fabbisogno minimo per gli adulti, mentre in presenza di rischio di ipovitaminosi D e/o di bassi livelli plasmatici di vitamina, tale intake dovrebbe essere portato a 1500-2000 UI/die nei soggetti con più di 19 anni. Anche gli ULs, 10000 UI/die, sarebbero molto distanti da quelli raccomandati dallo IOM. In gravidanza l'aumentato fabbisogno renderebbe necessaria l'assunzione di un integratore multivitaminico (contenente almeno 400 UI di vitamina D) da supplementare con almeno 1000 UI/die di vitamina D.

Durante l'allattamento il fabbisogno materno di vitamina D ammonta a circa 1400 UI/die; per garantire, però, il giusto apporto vitaminico al neonato e quindi il sufficiente passaggio di vitamina D nel latte, sono necessarie dalle 4000 alle 6000 UI/die, qualora non si vogliano somministrare integratori al bambino (70).

È opportuno sottolineare ancora una volta che tali raccomandazioni sono riferite esclusivamente all'azione della Vitamina D su metabolismo calcio-fosforo, dal momento che entrambe le società neppure riconoscono effetti extrascheletrici.

Secondo i livelli di riferimento di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN 2014) elaborati dalla Società Italiana per la Nutrizione Umana (SINU), l'assunzione giornaliera raccomandata (population reference intake, PRI) di vitamina D si attesta a 15 μ g (600 UI) per la fascia di età compresa tra 1 e 74 anni, comprese donne in gravidanza e allattamento, e a 20 μ g (800 UI) dai 75 anni in poi, prendendo in considerazione sia gli apporti alimentari sia la sintesi endogena. Nei lattanti (6-12 mesi) l'assunzione di vitamina considerata adeguata (adequate intake, AI) si attesta a 10 μ g/die (400 UI). Tali raccomandazioni fanno riferimento alla vitamina D sotto forma di colecalciferolo (71). I LARN 2014 fissano inoltre il livello massimo tollerabile di assunzione (tolerable upper intake level, UL) nei soggetti adulti di entrambi i sessi, comprese donne in gravidanza e allattamento, a 100 μ g/die (4000 UI).

In che forma?

Le forme consigliate da assumere nella supplementazione della Vitamina D sono il colecalciferolo o Vitamina D3 e l'ergocalciferolo o Vitamina D2 (68,70). Entrambe le forme necessitano della doppia idrossilazione per essere attivate, pertanto particolari popolazioni (pazienti con insufficienza renale avanzata, con insufficienza epatica etc.) potrebbero non giovare di questo tipo di supplementazione, o almeno non alle dosi consigliate.

VITAMINA D ED EPIGENETICA

Gli effetti epigenetici della Vitamina D si esplicherebbero a più livelli: in primo luogo sussistono evidenze circa la capacità della Vitamina D di indurre la demetilazione del DNA sebbene con un meccanismo non ancora chiarito; in secondo luogo è documentata l'interazione tra recettori per la vitamina D e proteine che a loro volta condizionano i cosiddetti "chromatin modifiers", come HATs, HDACs, HMTs, ed i "chromatin remodelers"; alcuni dei geni che codificano per i suddetti modulatori della cromatina contengono proteine e demetilasi come la lysine-specific demethylase che interagiscono con il recettore della vitamina D ed i suoi ligandi (68 72).

In realtà, per quanto concerne l'epigenetica fetale, uno studio su due coorti di donne e rispettivi neonati norvegesi e inglesi per un totale di 1416 coppie madre/figlio non ha mostrato alcuna correlazione tra i livelli materni di Vitamina D alla 18 settimana di gestazione e la metilazione del DNA nel sangue da cordone (73).

CONCLUSIONI

Allo stato attuale non ci sono evidenze tali da poter supportare la supplementazione con Vitamina D nella prevenzione del GDM (Livello II, Forza C), o nel trattamento del GDM (Livello III, Forza C).

L'eterogeneità dei risultati riportati in letteratura, nonostante parziali evidenze circa un'associazione tra ipovitaminosi D e rischio di sviluppare GDM potrebbe essere dovuta a più fattori. In primis, è possibile che per avere degli effetti clinici rilevanti la supplementazione debba essere eseguita nelle primissime fasi della gravidanza o addirittura nella fase preconcepimento, similmente a quanto accade con l'acido folico o con l'attività fisica; in secondo luogo l'associazione tra bassi livelli di Vitamina D e GDM potrebbe non essere di tipo causale: bassi livelli potrebbero essere un marker idoneo ad individuare donne predisposte allo sviluppo di GDM per altri motivi oppure l'associazione potrebbe essere di tipo causale ma individuata in modo inverso: non sarebbero bassi livelli di vitamina D a predisporre al diabete, ma sarebbe la predisposizione al diabete a causare una riduzione della vitamina D o un'alterazione del suo metabolismo. Infine, la vitamina D biodisponibile non è esattamente la 25(OH)D: la quota attiva dipende dalla seconda idrossilazione, dalla concentrazione di VD-binding protein, dall'albumina. Nel soggetto con fattori di rischio per GDM, come l'obesità questi parametri potrebbero risultare diversi, mascherando un diverso stato vitaminico. Infine, ancor prima, sarebbe auspicabile definire il range di normalità in gravidanza, almeno per gli effetti scheletrici della 25(OH)D.

VITAMINA D: SUMMARY BOX

- Non vi è consenso circa i range di normalità dei livelli di Vitamina D in gravidanza.
- Attualmente non sussistono evidenze tali da poter raccomandare la supplementazione con Vitamina D per la prevenzione e/o il trattamento del GDM.
- Altri fattori, quali il BMI, potrebbero interferire nella valutazione dei livelli di vitamina D.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Nagpal S., Na S., Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev.* 2005 Aug;26(5):662-87.
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007 Jul 19;357(3):266-81.
3. Haddad JG, Matsuoka LY, Hollis BW, Hu YZ, Wortsman J. J Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *Clin Invest.* 1993 Jun;91(6):2552-5
4. Clemens TL, Henderson SL, Adams JS, Holick MF. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet.* 1982 Jan 9;1(8263):74-6.
5. Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr.* 2004 Mar;79(3):362-71.
6. MacLaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J Clin Invest.* 1985 Oct;76(4):1536-8.
7. Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987 Jun;64(6):1165-8
8. Monaco F., *Endocrinologia Clinica* IV edizione, Società Scientifica Universo
9. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007 Sep;7(9):684-700
10. Jolliffe DA, Walton RT, Griffiths CJ, Martineau AR. Single nucleotide polymorphisms in the vitamin D pathway associating with circulating concentrations of vitamin D metabolites and non-skeletal health outcomes: Review of genetic association studies. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016 Nov;164:18-29
11. Shi A, Wen J, Liu G, Liu H, Fu Z, Zhou J, Zhu Y, Liu Y, Guo X, Xu J. Genetic variants in vitamin D signaling pathways and risk of gestational diabetes mellitus. *Oncotarget.* 2016 Oct 18;7(42):67788-67795.
12. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH & Kovacs CS. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2012 Jun;33(3):456-92.
13. Bland R, Markovic D, Hills CE, Hughes SV, Chan SL, Squires PE, Hewison M. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in pancreatic islets. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 May;89-90(1-5):121-5.
14. Chiu K.C., Chu A., Go V.L., Saad M.F. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr.* 2004 May;79(5):820-5.
15. Draznin B., Sussman K.E., Eckel R.H., Kao M., Yost T., Sherman N.A. Possible role of cytosolic free calcium concentrations in mediating insulin resistance of obesity and hyperinsulinemia. *J Clin Invest.* 1988 Dec;82(6):1848-52.
16. Norman A.W., Frankel J.B., Heldt A.M., Grodsky G.M. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science.* 1980 Aug 15;209(4458):823-5.

17. Tai K, Need AG, Horowitz M, Chapman IM. Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition*. 2008 Mar;24(3):279-85.
18. Vaidya A., Williams J.S. Vitamin D and insulin sensitivity: Can gene association and pharmacogenetic studies of the vitamin d receptor provide clarity? *Metabolism*. 2012 Jun;61(6):759-61
19. Hey H, Stokholm KH, Lund B, Lund B, Sørensen OH. Vitamin D deficiency in obese patients and changes in circulating vitamin D metabolites following jejunoileal bypass. *Int J Obes*. 1982;6(5):473-9.
20. Josefson JL, Reisetter A, Scholtens DM, Price HE, Metzger BE, Langman CB; HAPO Study Cooperative Research Group. Maternal BMI Associations with Maternal and Cord Blood Vitamin D Levels in a North American Subset of Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study Participants. *PLoS One*. 2016 Mar 4;11(3):e0150221.
21. Miraglia del Giudice E, Grandone A, Cirillo G, Capristo C, Marzuillo P, Di Sessa A, Umamo GR, Ruggiero L, Perrone L. Bioavailable Vitamin D in Obese Children: The Role of Insulin Resistance. *Clin Endocrinol Metab*. 2015 Oct;100(10):3949-55.
22. Krul-Poel YH, Westra S, ten Boekel E, ter Wee MM, van Schoor NM, van Wijland H, Stam F, Lips PT, Simsek S. Effect of Vitamin D Supplementation on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes (SUNNY Trial): A Randomized Placebo-Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2015 Aug;38(8):1420-6.
23. Krul-Poel YH, Ter Wee MM, Lips P, Simsek S. The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Endocrinol*. 2017 Jan;176(1):R1-R14.
24. Mirhosseini N, Vatanparast H, Mazidi M, Kimball SM. The effect of improved serum 25-hydroxyvitamin D status on glycemic control in diabetic patients: A meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Sep 1;102(9):3097-3110.
25. Sørensen I.M., Jøner G., Jenum P.A., Eskild A., Torjesen P.A., Stene L.C. Maternal serum levels of 25-hydroxy-vitamin D during pregnancy and risk of type 1 diabetes in the offspring. *Diabetes*. 2012 Jan;61(1):175-8.
26. Hyppönen E., Läärä E., Reunanen A., Järvelin M.-R., Virtanen S.M. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: A birth-cohort study. *Lancet*. 2001 Nov 3;358(9292):1500-3.
27. Brannon PM, Picciano MF. Vitamin D in pregnancy and lactation in humans. *Annu Rev Nutr*. 2011;31:89-115.
28. Marwaha R., Tandon N., Chopra S., Agarwal N., Garg M., Sharma B., Kanwar R., Bhadra K., Singh S., Mani K. Vitamin D status in pregnant indian women across trimesters and different seasons and its correlation with neonatal serum 25-hydroxyvitamin D levels. *Br J Nutr*. 2011 Nov;106(9):1383-9
29. Perampalam S., Ganda K., CHOW K.A., Opie N., Hickman P.E., Shadbolt B., Hennessy A., Grunstein H., Nolan C.J. Vitamin D status and its predictive factors in pregnancy in 2 Australian populations. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2011 Aug;51(4):353-9.
30. Tao M., Shao H., Gu J., Zhen Z. Vitamin d status of pregnant women in Shanghai, China. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Mar;25(3):237-9.

31. Sääf M., Fernell E., Kristiansson F., Barnevik Olsson M., Gustafsson S.A., Bågenholm G. Severe vitamin D deficiency in pregnant women of somali origin living in sweden. *Acta Paediatr.* 2011 Apr;100(4):612-4.
32. Shibata M., Suzuki A., Sekiya T., Sekiguchi S., Asano S., Udagawa Y., Itoh M. High prevalence of hypovitaminosis D in pregnant Japanese women with threatened premature delivery. *J Bone Miner Metab.* 2011 Sep;29(5):615-20
33. Rodriguez A, García-Esteban R, Basterretxea M, Lertxundi A, Rodríguez-Bernal C, Iñiguez C, Rodríguez-Dehli C, Tardón A, Espada M, Sunyer J, Morales E. Associations of maternal circulating 25-hydroxyvitamin D3 concentration with pregnancy and birth outcomes. *BJOG.* 2015 Nov;122(12):1695-704
34. Bodnar LM, Simhan HN, Powers RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin D insufficiency in black and white pregnant women residing in the northern United States and their neonates. *J Nutr.* 2007 Feb;137(2):447-52
35. Al Kalbani M, Elshafie O, Rawahi M, Al-Mamari A, Al-Zakwani A, Woodhouse N. Vitamin D Status in Pregnant Omanis: A disturbingly high proportion of patients with low vitamin D stores. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2011 Feb;11(1):52-5.
36. Emmerson AJB, Dockery K, Mughal MZ, Roberts SA, Tower CL, Berry JL. Vitamin D status of White pregnant women and infants at birth and 4 months in North West England: A cohort study. *Matern Child Nutr.* 2017 Apr 18.
37. Anwar S, Iqbal MP, Azam I, Habib A, Bhutta S, Soofi SB, Bhutta ZA. Urban and rural comparison of vitamin D status in Pakistani pregnant women and neonates. *J Obstet Gynaecol.* 2016;36(3):318-23.
38. Merewood A, Mehta SD, Chen TC, Bauchner H, Holick MF. Association between vitamin D deficiency and primary cesarean section. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Mar;94(3):940-5.
39. Domaracki P, Sadlecki P, Odrowaz-Sypniewska G, Dzikowska E, Walentowicz P, Siodmiak J, Grabiec M, Walentowicz-Sadlecka M. Serum 25(OH) Vitamin D Levels in Polish Women during Pregnancies Complicated by Hypertensive Disorders and Gestational Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2016 Sep 27;17(10).
40. Baca KM, Simhan HN, Platt RW, Bodnar LM. Low maternal 25-hydroxyvitamin D concentration increases the risk of severe and mild preeclampsia. *Ann Epidemiol.* 2016 Dec;26(12):853-857.e1.
41. Bodnar LM, Catov JM, Zmuda JM, Cooper ME, Parrott MS, et al. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with small-for-gestational age births in white women. *J Nutr.* 2010 May;140(5):999-1006
42. Gernand AD, Simhan HN, Klebanoff MA, Bodnar LM. Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and measures of newborn and placental weight in a U.S. multicenter cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Jan;98(1):398-404.
43. Leffelaar ER, Vrijkotte TG, van Eijsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam Born Children and their Development cohort. *Br J Nutr.* 2010 Jul;104(1):108-17.

44. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, et al. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2013 Mar 26;346:f1169.
45. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Pena-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Jan 14;(1):CD008873
46. Shahgheibi S, Farhadifar F, Pouya B. The effect of vitamin D supplementation on gestational diabetes in high-risk women: Results from a randomized placebo-controlled trial. *J Res Med Sci*. 2016 Jan 28;21:2
47. Maghbooli Z., Hossein-Nezhad A., Karimi F., Shafaei A.R., Larijani B. Correlation between vitamin D3 deficiency and insulin resistance in pregnancy. *Diabetes Metab Res Rev*. 2008 Jan-Feb;24(1):27-32.
48. Lacroix M., Battista M.C., Doyon M., Houde G., Menard J., Ardilouze J.L., Hivert M.F., Perron P. Lower vitamin D levels at first trimester are associated with higher risk of developing gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2014 Aug;51(4):609-16.
49. Zhang C., Qiu C., Hu F.B., David R.M., van Dam R.M., Bralley A., Williams M.A. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and the risk for gestational diabetes mellitus. *PLoS One*. 2008;3(11):e3753.
50. Soheilykhah S, Mojibian M, Rashidi M, Rahimi-Saghand S, Jafari F. Maternal vitamin D status in gestational diabetes mellitus. *Nutr Clin Pract*. 2010 Oct;25(5):524-7.
51. Parlea L., Bromberg I.L., Feig D.S., Vieth R., Merman E., Lipscombe L.L. Association between serum 25-hydroxyvitamin D in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2012 Jul;29(7):e25-32.
52. Baker A.M., Haeri S., Camargo C.A., Jr., Stuebe A.M., Boggess K.A. First-trimester maternal vitamin D status and risk for gestational diabetes (GDM) a nested case-control study. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012 Feb;28(2):164-8.
53. Farrant H.J., Krishnaveni G.V., Hill J.C., Boucher B.J., Fisher D.J., Noonan K., Osmond C., Veena S.R., Fall C.H. Vitamin D insufficiency is common in indian mothers but is not associated with gestational diabetes or variation in newborn size. *Eur J Clin Nutr*. 2009 May;63(5):646-52.
54. Park S, Yoon HK, Ryu HM, Han YJ, Lee SW, Park BK, Park SY, Yim CH, Kim SH. Maternal vitamin D deficiency in early pregnancy is not associated with gestational diabetes mellitus development or pregnancy outcomes in Korean pregnant women in a prospective study. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2014;60(4):269-75
55. Makgoba M., Nelson S.M., Savvidou M., Messow C.M., Nicolaides K., Sattar N. First-trimester circulating 25-hydroxyvitamin D levels and development of gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011 May;34(5):1091-3
56. Yap C, Cheung NW, Gunton JE, Athayde N, Munns CF, Duke A, McLean M. Vitamin D Supplementation and the Effects on Glucose Metabolism During Pregnancy: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2014 Jul;37(7):1837-44

57. Kramer CK, Swaminathan B, Hanley AJ, Connelly PW, Sermer M, Zinman B, Retnakaran R. Vitamin D and parathyroid hormone status in pregnancy: effect on insulin sensitivity, β -cell function, and gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 Dec;99(12):4506-13.
58. Poel YH, Hummel P, Lips P, Stam F, van der Ploeg T, Simsek S. Vitamin D and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med*. 2012 Jul;23(5):465-9.
59. Zhang MX, Pan GT, Guo JF, Li BY, Qin LQ, Zhang ZL. Vitamin D Deficiency Increases the Risk of Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2015 Oct; 7(10): 8366–8375.
60. Jelsma JG, van Poppel MN, Galjaard S, Desoye G, Corcoy R, Devlieger R, van Assche A, Timmerman D, Jans G, Harreiter J, Kautzky-Willer A, Damm P, Mathiesen ER, Jensen DM, Andersen L, Dunne F, Lapolla A, Di Cianni G, Bertolotto A, Wender-Oegowska E, Zawiejska A, Blumska K, Hill D, Rebollo P, Snoek FJ, Simmons D. DALI: Vitamin D and lifestyle intervention for gestational diabetes mellitus (GDM) prevention: an European multicentre, randomised trial - study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013 Jul 5;13:142.
61. Shaat N, Ignell C, Katsarou A, Berntorp K. Glucose homeostasis, beta cell function, and insulin resistance in relation to vitamin D status after gestational diabetes mellitus. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2017 Jul;96(7):821-827.
62. Valizadeh M, Piri Z, Mohammadian F, Kamali K, Amir Moghadami HR. The Impact of Vitamin D Supplementation on Post-Partum Glucose Tolerance and Insulin Resistance in Gestational Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Int J Endocrinol Metab*. 2016 Apr 16;14(2):e34312.
63. Zhang Q, Cheng Y, He M, Li T, Ma Z, Cheng H. Effect of various doses of vitamin D supplementation on pregnant women with gestational diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Exp Ther Med*. 2016 Sep; 12(3): 1889–1895.
64. Asemi Z, Karamali M, Esmailzadeh A. Effects of calcium-vitamin D co-supplementation on glycaemic control, inflammation and oxidative stress in gestational diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Diabetologia*. 2014 Sep;57(9):1798-806
65. Weinert LS, Reichelt AJ, Schmitt LR, Boff R, Oppermann ML, Camargo JL, Silveiro SP. Vitamin D Deficiency Increases the Risk of Adverse Neonatal Outcomes in Gestational Diabetes. *PLoS One*. 2016 Oct 20;11(10):e0164999.
66. Gui J, Rohrbach A, Borns K, Hillemanns P, Feng L, Hubel CA, von Versen-Höynck F. Vitamin D rescues dysfunction of fetal endothelial colony forming cells from individuals with gestational diabetes. *Placenta*. 2015 Apr;36(4):410-8.
67. Cho GJ, Hong SC, Oh MJ, Kim HJ. Vitamin D deficiency in gestational diabetes mellitus and the role of the placenta. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Dec;209(6):560.e1-8
68. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA. The 2001 report on dietary reference intake for calcium and vitamin D from the institute of medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011 Jan;96(1): 53-8

69. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, Klein EK, Young A, Bibuld D, Reitz R, Salameh W, Ameri A, Tannenbaum AD. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Mar;93(3):677-81.
70. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH & Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Jul;96(7):1911-30.
71. SINU (Società Italiana Nutrizione Umana). LARN, 2014. <http://www.sinu.it/html/cnt/larn.asp>
72. Fetahu IS, Höbaus J, Kállay E. Vitamin D and the epigenome *Front Physiol.* 2014 Apr 29;5:164.
73. Suderman M, Stene LC, Bohlin J, Page CM, Holvik K, Parr CL, Magnus MC, Håberg SE, Joubert BR, Wu MC, London SJ, Relton C, Nystad W. 25-Hydroxyvitamin D in pregnancy and genome wide cord blood DNA methylation in two pregnancy cohorts (MoBa and ALSPAC). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016 May;159:102-9.

ACIDI GRASSI POLIINSATURI (PUFA)

COSA SONO E COME FUNZIONANO

Gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA), sono molecole formate da una lunga catena carboniosa e caratterizzati da uno o più doppi legami tra gli atomi di carbonio C=C. L'acido linoleico (LA, 18:2 n6) e l'acido α -linolenico (ALA, 18:3, n3) appartengono alle due maggiori classi di PUFAs, rispettivamente alla serie ω -6 e ω -3, e sono comunemente considerati come acidi grassi 'essenziali' (EFA) in quanto non possono essere sintetizzati dall'organismo a partire da altri acidi grassi e pertanto devono essere assunti con la dieta (1).

L'acido Eicosapentanoico (EPA) (20:5 n-3) e l'acido Docosaesanoico (DHA) (22: 6 n-3) sono considerati acidi grassi omega-3 a lunga catena (LC-PUFA) poiché contengono più di 20 atomi di carbonio. Possono derivare dall'acido linolenico (ALA), ma il tasso di conversione nell'organismo umano (prevalentemente a livello epatico) è limitato e non supera il 15% (2), pertanto devono essere introdotti con la dieta o supplementati per garantirne un adeguato apporto.

Gli acidi grassi insaturi includono anche la serie n-9, derivata dall'acido oleico (OA, 18:1) e la serie n-7, derivata dall'acido palmitoleico (16:1), che non sono essenziali (1).

Fonti alimentari di ω -6 sono gli oli vegetali liquidi, compresi quello di soia, di mais, di girasole, la frutta secca ed oleosa (mandorle, nocciole), legumi e cereali integrali, mentre semi di lino e chia, olio di canola, fagioli di soia e pesce sono ricchi in ω -3 (2,3). In particolare, EPA e DHA sono abbondantemente presenti nel pesce, nell'olio di pesce e nell'olio di krill, anche se originariamente sono sintetizzati nelle micro-alghe di cui i pesci si nutrono. Pesci come salmone, trota e aringa sono più ricchi in EPA e DHA di altri a più basso contenuto di grassi (ad esempio, il merluzzo) (2,4).

Gli ω -3 PUFA svolgono un ruolo importante nell'organismo umano e si trovano prevalentemente in forma esterificata associata ai fosfolipidi (PL) delle membrane cellulari o ai triacilgliceroli (TAG). In particolare, DHA è abbondante a livello cerebrale, della retina e dello sperma (3,5). Oltre ad una funzione strutturale, gli ω -3 insieme agli ω -6 rappresentano substrati energetici da cui vengono sintetizzati gli eicosanoidi (6). Gli

eicosanoidi sono molecole strutturalmente simili agli FAs che agiscono nella trasduzione del segnale, e che influenzano numerose funzioni a livello dei sistemi cardiovascolare, respiratorio, immunitario ed endocrino.

EPA e DHA sono in grado di aumentare la beta-ossidazione e up-regolare la biogenesi mitocondriale (7), e hanno dimostrato di ridurre l'insulinemia a digiuno e HOMA-IR e di ridurre la resistenza insulinica associata ad un'alimentazione ad alto contenuto di grassi nei ratti e negli uomini (8,9). Negli esseri umani, l'olio di pesce o una combinazione di supplementazione EPA / DHA a lungo termine, sembrano ritardare la progressione della sindrome metabolica al diabete di tipo 2 e ridurre l'insulino-resistenza (10). Inoltre, gli ω -3 PUFA agiscono efficacemente nel modulare il profilo lipidico e la composizione lipidica delle membrane cellulari (6).

Nella dieta occidentale, in cui si è assistito ad un progressivo incremento del consumo di carne, si è verificato nell'ultimo secolo un profondo cambiamento nella composizione dei PUFA (11), e ad oggi gli ω -6 sono in forte eccesso rispetto agli ω -3, raggiungendo un rapporto vicino a 25: 1 piuttosto che ai 3:1 raccomandati (5,6). Infatti, un adeguato rapporto di LC-PUFA è importante per la normale risposta infiammatoria: ω -3 e ω -6 LC-PUFA competono per gli enzimi di desaturazione e la sintesi di eicosanoidi attivi. I derivati eicosanoidi degli ω -6 promuovono l'infiammazione, la vasocostrizione e l'aggregazione piastrinica, mentre gli agenti derivati dagli ω -3 esercitano effetti opposti. EPA e DHA pertanto competono con l'acido arachidonico spostando l'equilibrio degli eicosanoidi verso un'attività antinfiammatoria.

I PUFA ω -3 sono anche coinvolti nel mantenimento dell'equilibrio tra generazione di reattivi dell'ossigeno (ROS) e difesa antiossidante. Come noto sia l'infiammazione che lo stress ossidativo sono coinvolti in eventi critici della riproduzione, come ovulazione e impianto: pertanto un eccessivo stress infiammatorio e/o ossidativo può determinare possibili alterazioni delle prime fasi della gravidanza (12).

LC-PUFA OMEGA-3 IN GRAVIDANZA

L'aumento del consumo di pesce in gravidanza sembra ridurre il rischio di parto pre-termine e di complicazioni, anche se i meccanismi che governano questi effetti rimangono tuttora incerti. Pertanto, il ruolo degli omega-3 PUFA nello sviluppo pre- e post-natale e nel rischio di patologie croniche è stato identificato sulla base delle evidenze di numerosi studi osservazionali e trials randomizzati. Esistono, tuttavia, ancora controversie riguardo agli effetti benefici del PUFA omega-3 nella gravidanza fisiologica o nel trattamento e prevenzione del diabete durante la gravidanza e dei suoi esiti sulla prole.

La IOM, in assenza di adeguate evidenze per stabilire un fabbisogno giornaliero medio di ω -3, nella popolazione generale come in gravidanza, ha definito l'assunzione adeguata (AI) basandosi sul consumo della popolazione generale. Per le donne con gravidanza fisiologica è stato definito un'AI di 1,4 gr al giorno di ALA, e di 1,3 gr/die per l'allattamento (5).

Una ampia revisione sistematica è stata condotta nel 2016 con lo scopo di identificare gli effetti della supplementazione di omega-3 PUFA in gravidanza sulla salute materna e fetale (13). Tale revisione rappresentava un aggiornamento di una precedente del 2005 che non aveva riscontrato sufficienti evidenze per dare conclusioni definitive riguardo gli effetti degli omega-3 PUFA sugli outcome della gravidanza, in particolare su peso e lunghezza alla nascita, rischio di parto pre-termine, ritardo di crescita intra-uterino (IUGR), circonferenza cranica neonatale, ipertensione gravidica e pre-eclampsia, ma anche relativi allo sviluppo post-natale come quello neurologico, cognitivo e delle funzioni visive (14). L'aggiornamento del 2016 aveva incluso nelle analisi alcuni studi osservazionali prospettici, inoltre aveva ampliato gli outcomes di interesse rispetto alla review originale, comprendendo anche la depressione post-partum, l'ADHD

(disordine pediatrico di deficit dell'attenzione iperattivo), allergie e dermatiti atopiche infantili, disordini dello spettro autistico. La maggior parte degli studi inclusi in tale revisione esaminavano gli effetti della supplementazione di omega-3 PUFA (in differenti combinazioni di EPA e DHA) in donne in gravidanza o allattamento. Ad eccezione di un lieve effetto statisticamente significativo della supplementazione di DHA sulla durata della gestazione (che tuttavia non si traduceva in una riduzione significativa del rischio di parto pre-termine) l'integrazione di omega-3 in gravidanza (o la fortificazione della nutrizione per l'infanzia) non si rifletteva in evidenze di effetti consistenti sugli outcome materni, neonatali e post-natali (13).

Alcuni studi hanno dimostrato l'efficacia della supplementazione dei omega-3 sullo stato infiammatorio sia sistemico che placentare. Una supplementazione di 2 gr/die di omega-3 (DHA 800 mg e EPA 1200 mg) in donne sovrappeso/obese a partire dalla prima metà della gestazione, con una riduzione del rapporto $\omega 6:\omega 3$, si traduceva in una riduzione dei marcatori di infiammazione a livello del tessuto adiposo materno e di quello placentare (IL6, IL8, TNF α , PCR e TLR4), in assenza di effetti sulla resistenza insulinica (HOMA-IR) (15). Lager et al. (16) erano giunti ad una simile conclusione, riscontrando una riduzione dei mediatori del segnale infiammatorio a livello dell'omogenato placentare in donne obese supplementate con 800 mg/die di DHA nel terzo trimestre, mitigando gli effetti dell'obesità materna sul trasporto di nutrienti placentare, senza modulare la sensibilità insulinica, lo stato infiammatorio sistemico o il profilo lipidico materni (16).

Gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga Omega-3 svolgono un ruolo importante nell'impianto, nella placentazione e nell'ulteriore sviluppo di una gravidanza normale (17-19). Una compromissione di tali processi sembra alla base dell'incrementato rischio di sviluppare disordini ipertensivi e pre-eclampsia, anche se i fattori causali non sono stati specificatamente stabiliti. I trials clinici esistenti (20-23) e gli studi osservazionali (24-26) non hanno mostrato tuttavia un beneficio significativo dell'assunzione di omega-3 per la prevenzione di ipertensione gestazionale e preeclampsia.

I risultati non conclusivi possono attribuirsi sia alla estrema eterogeneità nel disegno degli studi, sia al tipo e dosaggio della supplementazione (800-2000 mg/die), che all'epoca gestazionale dell'inizio del trattamento (spesso superiore alla 17° settimana).

Negli ultimi anni è cresciuto l'interesse sugli effetti dei PUFA sugli *outcomes* di sviluppo post-natale. Una recente metanalisi, comprendente oltre 10000 donne, non ha identificato effetti della supplementazione di omega-3 in gravidanza nella lunghezza del neonato (95% CI: -0.03, 0.21, $p = 0.14$), nel peso post-natale (1-7 anni) (95% CI: -0.07, 0.14, $p = 0.48$), nel BMI post-natale (1-7 anni) (95% CI: -0.05, 0.23, $p = 0.23$) e su altri parametri di composizione corporea (somma delle pliche, percentuale di massa grassa) ($p > 0.05$). L'integrazione di omega-3 sembra aumentare significativamente il peso neonatale (95% CI: 21.25, 63.85, $p < 0.0001$), in particolare nel sottogruppo con più alti livelli di DHA (> 800 mg/die) (27). Ad una stessa conclusione è arrivato uno studio di follow up sugli effetti su BMI e composizione corporea dei bambini nati da madri partecipanti ad un precedente trial sulla supplementazione di EPA/DHA (28): l'intake materno di PUFA omega-3 non si associava ad effetti sulla composizione corporea nei bambini all'età di 3-5 anni (29).

Inoltre, la supplementazione pre-natale di basse dosi di DHA, nella seconda metà della gravidanza, non sembrano associarsi ad effetti sulle frazioni lipidiche o sulla glicemia dei bambini all'età di 4 anni (30).

I risultati di trials e successivi studi di follow up sugli effetti della supplementazione di PUFA nella seconda metà della gravidanza sulle funzioni cognitive, motorie ed intellettive nella prole all'età di 18 mesi (28), 4 anni (31) e 7 anni (32) non hanno identificato differenze significative tra i nati da madri randomizzate alla supplementazione con 800 mg/die di DHA o placebo, in assenza anche di effetti sui sintomi depressivi post-partum nelle madri (28).

Secondo una revisione Cochrane del 2015, anche la supplementazione di LC-PUFA in allattamento non si associa ad effetti positivi sullo sviluppo neuropsicologico né sull'acuità visiva della prole, con l'eccezione di una moderata evidenza a favore dell'integrazione sull'attenzione di bambini all'età di 5 anni (un solo studio, MD 4.70, 95% CI 1.30 to 8.10) (33).

LC-PUFA OMEGA-3 E DIABETE GESTAZIONALE

Numerose sono ancora le controversie sugli effetti della supplementazione con omega-3 nella prevenzione e trattamento del GDM.

Il GDM si associa ad alterazioni del profilo lipidico, con livelli di trigliceridi e frazione LDL del colesterolo significativamente aumentati rispetto a donne con normale tolleranza glucidica, associati a valori più elevati di AFABP (*adipocyte fatty acid-binding protein*) e altre adipochine (34).

Studi sull'associazione tra apporto di DHA PUFA e rischio di diabete gestazionale hanno dato risultati contrastanti. Studi osservazionali hanno riconosciuto come il ridotto apporto dietetico di acidi grassi poli-insaturi, associato ad aumento dell'apporto di grassi saturi, rappresenti un fattore di rischio per lo sviluppo di GDM (35). Altri studi prospettici non hanno identificato un'associazione tra assunzione di PUFA nella dieta materna e rischio di GDM (36).

Trials randomizzati non portano conclusioni sull'efficacia dei PUFA nella riduzione del rischio di sviluppare diabete in gravidanza. Zhou *et al.* (23) hanno condotto uno studio per verificare l'effetto di DHA vs placebo sul rischio di sviluppare il GDM: 2399 donne sono state quindi randomizzate ad assumere 800 mg/die di DHA o capsule di olio vegetale privo di DHA. Lo studio ha concluso che il rischio di GDM non può essere ridotto dall'integrazione di PUFA nella seconda metà della gravidanza (RR 0.97, 95% CI: 0.74-1.27, $p > 0.05$) (23). Un altro studio iraniano, svolto per indagare gli effetti degli omega-3 (1000 mg, comprendente 120 mg e 180 mg di DHA e EPA rispettivamente, per 6 settimane) sul metabolismo glucidico in 56 donne con GDM, non ha portato conclusioni di efficacia della supplementazione sulla riduzione dell'insulinemia a digiuno (-1.5 ± 7.5 vs. $+3.5 \pm 8.5$ mIU/mL, $P = 0.02$), della sensibilità insulinica (HOMA-IR -0.4 ± 2.1 vs. $+1.1 \pm 2.4$, $P = 0.02$) o nel profilo lipidico; tale studio, in accordo ad altri, confermava l'efficacia nella riduzione di parametri di flogosi nel gruppo di intervento (hs-PCR -236.3 ± 1541.9 vs. 898.6 ± 2292.7 ng/mL, $P = 0.03$) (37).

Anche in questo caso, l'eterogeneità dei disegni degli studi, in termini di composizione della supplementazione (dosaggi ed associazioni di DHA ed EPA), della numerosità del campione arruolato e dell'epoca gestazionale all'inizio del trattamento, potrebbe aver inficiato la mancanza di risultati conclusivi sull'efficacia dell'integrazione con PUFA nelle donne con GDM.

PUFA ED EPIGENETICA

Ad oggi studi sugli animali hanno dimostrato che gli omega-3 PUFA, nella gravidanza con diabete, si associano a riduzione di colesterolo e trigliceridi e contribuiscono al mantenimento del sistema immunitario, promuovendo la differenziazione della cellula T helper (Th) in un fenotipo Th2 e spostando il rapporto Th1/Th2 da un fenotipo pro-infiammatorio Th1 a un fenotipo antinfiammatorio Th2. Entrambi questi elementi risultano protettivi per la macrosomia e per lo sviluppo di obesità e iperlipemia nella progenie adulta (38,39).

Lo studio degli effetti della supplementazione per 6 settimane di EPA+DHA sull'espressione di geni coinvolti nel metabolismo lipidico, nella sensibilità insulinica e nello stato infiammatorio nelle PBMC di donne affette da GDM, hanno ulteriormente rinforzato l'evidenza dell'efficacia degli omega-3 nel modulare lo stato infiammatorio materno, up-regolando l'espressione del PPAR- γ ($P = 0.04$) e riducendo quella del recettore per LDL (LDL-R, $P < 0.001$) e di marcatori di infiammazione come TNF- α ($P = 0.01$) e interleuchina 1 (IL-1, $P = 0.007$) (40). Clinicamente la supplementazione di omega-3 si esprimeva con una riduzione di marker infiammatori (hs-PCR) senza però effetti sugli outcome neonatali ad eccezione di una riduzione dell'incidenza di iperbilirubinemia nel braccio trattato (41).

QUANTO

Nel 2007 è stata tenuta una Consensus Conference europea, a cui hanno partecipato numerosi organismi di ricerca internazionali, e da cui è stata sviluppata una dichiarazione di consenso con raccomandazioni sull'intake di acidi grassi in gravidanza (42). Le conclusioni adottate includevano un'assunzione di grassi nella gravidanza e durante l'allattamento analoga a quella della popolazione generale, e raccomandavano che le donne gestanti e in allattamento mirassero a raggiungere un apporto alimentare medio di almeno 200 mg di DHA / die. Inoltre, le donne in età fertile dovrebbero mirare a consumare una o due porzioni di pesce di mare a settimana, compresi i pesci grassi, raccomandando una valutazione nutrizionale per identificare e trattare un inadeguato apporto alimentare di omega-3 PUFA (43).

Il Consiglio per l'alimentazione e la nutrizione dello IOM ha sviluppato quelli che sono considerati i livelli di assunzione adeguati e minimi raccomandati per il gruppo PUFA omega-3. L'assunzione adeguata (AI) raccomandata per i PUFA omega-3 sono 1,3 g / giorno per le donne che allattano, 1,1 g / giorno per le donne adulte e 1,4 g / giorno per le donne in gravidanza (5).

Secondo i Livelli di Riferimento di energia e nutrienti per la popolazione italiana (LARN 2014) elaborati dalla Società Italiana per la Nutrizione Umana (SINU), l'intervallo di riferimento (RI) per l'assunzione di PUFA nelle donne in gravidanza è compresa tra il 5 ed il 10% dell'energia totale della dieta, in particolare un 4-8% di PUFA ω -6 e 0,5-2% di ω -3, praticamente sovrapponibile a quella della popolazione adulta generale (43). Tuttavia, l'assunzione adeguata (AI) di EPA-DHA, rispetto a quella della popolazione adulta (250 mg/die), in gravidanza dovrebbe essere implementata di 100-200 mg/die di DHA (43).

CONCLUSIONI

Non ci sono sufficienti evidenze per raccomandare o escludere la supplementazione di acidi grassi poli-insaturi a lunga catena (LC-PUFA omega-3) in gravidanza per prevenire o trattare il diabete gestazionale.

Diversi studi sembrano tuttavia confermare l'effetto di modulazione sullo stato infiammatorio sistemico e placentare in donne obese ed in quelle con GDM. Inoltre, l'assunzione fino ad 1 gr/die di DHA e a 2,7 gr/die di EPA è stata utilizzata in trials clinici randomizzati senza significativi effetti avversi.

In attesa di ulteriori trials clinici strutturati per comprendere l'efficacia di differenti dosaggi di DHA ed EPA, la supplementazione routinaria di omega-3 PUFA in gravidanza non è raccomandata.

ACIDI GRASSI: SUMMARY BOX

- Attualmente non sussistono evidenze tali da poter raccomandare la supplementazione con omega-3 PUFA per la prevenzione e/o il trattamento del GDM.
- Gli omega-3 PUFA presentano un effetto antinfiammatorio.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Russo GL. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention. *Biochem Pharmacol.* 2009;77(6):937-46.
2. Harris WS. Omega-3 fatty acids. In: Coates PM, Betz JM, Blackman MR, et al., eds. *Encyclopedia of Dietary Supplements*. 2nd ed. London and New York: Informa Healthcare; 2010:577-86.
3. Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvani M. Polyunsaturated fatty acids: biochemical, nutritional and epigenetic properties. *J Am Coll Nutr* 2004;23:281–302.
4. Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Their Health Benefits. *Annu Rev Food Sci Technol.* 2018 Mar 25;9:345-381
5. Institute of Medicine of the National Academies. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids / Panel on Macronutrients, Panel on the Definition of Dietary Fiber, Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients, Subcommittee on Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board. Available at: <http://www.nal.usda.gov/fnic/>. The National Academies Press. Washington, DC: 2005.
6. Shahidi F, Ambigaipalan P. Novel functional food ingredients from marine sources. *Curr. Opin. Food Sci.* 2015; 2:123–29
7. McCowen KC, Bistrrian BR. Essential fatty acids and their derivatives. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005; 21(2):207–15.
8. Lombardo YB, Chicco AG. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. A review. *J Nutr Biochem.* 2006; 17(1):1–13.
9. Luo J, Rizkalla SW, Boillot J, Alamowitch C, Chaib H, Bruzzo F, et al. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids improve adipocyte insulin action and glucose metabolism in insulin-resistant rats: relation to membrane fatty acids. *J Nutr.* 1996;126(8):1951–8
10. Hendrich S. (n-3) Fatty Acids: Clinical Trials in People with Type 2 Diabetes. *Adv Nutr.* 2010; 1(1):3–7

11. Blasbalg TL, Hibbeln JR, Ramsden CE, Majchrzak SF, Rawlings RR. Changes in consumption of omega-3 and omega-6 fatty acids in the United States during the 20th century. *Am J Clin Nutr.* 2011; 93(5):950–62
12. Leghi, G.E., Muhlhausler, B.S. The effect of n-3 LCPUFA supplementation on oxidative stress and inflammation in the placenta and maternal plasma during pregnancy. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 2016, 113, 33–39.
13. Newberry SJ, Chung M, Booth M, et al. Omega-3 Fatty Acids and Maternal and Child Health: An Updated Systematic Review. Evidence Reports/Technology Assessments, No. 224. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2016.
14. Lewin GA, Schachter HM, Yuen D, et al. Effects of omega-3 fatty acids on child and maternal health. *Evid Rep Technol Assess (Summ).* 2005;(118):1-11.
15. Haghiac M, Yang XH, Presley L, Smith S, Dettelback S, Minium J, Belury MA, Catalano PM, Hauguel-de Mouzon S. Dietary Omega-3 Fatty Acid Supplementation Reduces Inflammation in Obese Pregnant Women: A Randomized Double-Blind Controlled Clinical Trial. *PLoS One.* 2015;10(9):e0137309. eCollection 2015
16. Lager S, Ramirez VI, Acosta O, Meireles C, Miller E, Gaccioli F, Rosario FJ, Gelfond JAL, Hakala K, Weintraub ST, Krummel DA, Powell TL. Docosahexaenoic Acid Supplementation in Pregnancy Modulates Placental Cellular Signaling and Nutrient Transport Capacity in Obese Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(12):4557-4567.
17. McKeegan, P.J., Sturmey, R.G. The role of fatty acids in oocyte and early embryo development. *Reprod. Fertil. Dev.* 2011, 24, 59–67.
18. Salleh, N. Diverse Roles of Prostaglandins in Blastocyst Implantation. *Sci. World J*, 2014, 968141.
19. Johnsen GM, Basak S, Weedon-Fekjær MS, Staff AC, Duttaroy AK. Docosahexaenoic acid stimulates tube formation in first trimester trophoblast cells, HTR8/SVneo. *Placenta* 2011, 32, 626–632
20. Harper M, Thom E, Klebanoff MA, et al. Omega-3 fatty acid supplementation to prevent recurrent preterm birth: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol.* 2010;115(2 Pt 1):234-42.
21. Carlson SE, Colombo J, Gajewski BJ, et al. DHA supplementation and pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):808-15.
22. Mozurkewich EL, Clinton CM, Chilimigras JL, et al. The Mothers, Omega-3, and Mental Health Study: a double-blind, randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(4):313.e1-9.
23. Zhou SJ, Yelland L, McPhee AJ, et al. Fish-oil supplementation in pregnancy does not reduce the risk of gestational diabetes or preeclampsia. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(6):1378-84.
24. Al MD, van Houwelingen AC, Badart-Smoock A, et al. The essential fatty acid status of mother and child in pregnancy-induced hypertension: a prospective longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172(5):1605-14.
25. Clausen T, Slott M, Solvoll K, et al. High intake of energy, sucrose, and polyunsaturated fatty acids is associated with increased risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185(2):451-8.
26. Oken E, Ning Y, Rifas-Shiman SL, et al. Diet during pregnancy and risk of preeclampsia or gestational hypertension. *Ann Epidemiol.* 2007 Sep;17(9):663-8.
27. Li GL, Chen HJ, Zhang WX, Tong Q, Yan YE. Effects of maternal omega-3 fatty acids supplementation during pregnancy/lactation on body composition of the offspring: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr.* 2017

28. Makrides M, Gibson RA, McPhee AJ, Yelland L, Quinlivan J, Ryan P. Effect of DHA supplementation during pregnancy on maternal depression and neurodevelopment of young children: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010;304:1675–83
29. Muhlhausler BS, Yelland LN, McDermott R, Tapsell L, McPhee A, Gibson RA, Makrides M. DHA supplementation during pregnancy does not reduce BMI or body fat mass in children: follow-up of the DHA to Optimize Mother Infant Outcome randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2016 ;103(6):1489-96.
30. Gutierrez-Gomez Y, Stein AD, Ramakrishnan U, Barraza-Villarreal A, Moreno-Macias H, Aguilar-Salinas C, Romieu I, Rivera JA. Prenatal Docosahexaenoic Acid Supplementation Does Not Affect Nonfasting Serum Lipid and Glucose Concentrations of Offspring at 4 Years of Age in a Follow-Up of a Randomized Controlled Clinical Trial in Mexico. *J Nutr.* 2017;147(2):242-247
31. Makrides M, Gould JF, Gawlik NR, et al. Four-year follow-up of children born to women in a randomized trial of prenatal DHA supplementation. *JAMA.* 2014; 311(17):1802-1804.
32. Gould JF, Treyvaud K, Yelland LN, Anderson PJ, Smithers LG, McPhee AJ, Makrides M. Seven-Year Follow-up of Children Born to Women in a Randomized Trial of Prenatal DHA Supplementation. *JAMA.* 2017;317(11):1173-1175.
33. Delgado-Noguera MF, Calvache JA, Bonfill Cosp X, Kotanidou EP, Galli-Tsinopoulou A. Supplementation with long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) to breastfeeding mothers for improving child growth and development. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(7):CD007901.
34. Zhang, Y.; Zhang, H.H.; Lu, J.H.; Zheng, S.Y.; Long, T.; Li, Y.T.; Wu, W.Z.; Wang, F. Changes in serum adipocyte fatty acid-binding protein in women with gestational diabetes mellitus and normal pregnant women during mid- and late pregnancy. *J. Diabetes Investig.* 2016, 7, 797–804.
35. Wang Y, Storlien LH, Jenkins AB, Tapsell LC, Jin Y, Pan JF, et al. Dietary variables and glucose tolerance in pregnancy. *Diabetes Care* 2000;23:460e4.
36. Bowers K, Tobias DK, Yeung E, Hu FB, Zhang C. A prospective study of prepregnancy dietary fat intake and risk of gestational diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(2):446–53.
37. Samimi M, Jamilian M, Asemi Z, Esmailzadeh A. Effects of omega-3 fatty acid supplementation on insulin metabolism and lipid profiles in gestational diabetes: Randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 2015;34(3):388–93.
38. Soulimane-Mokhtari N. A., Guermouche B., Yessoufou A. et al. Modulation of lipid metabolism by n-3 polyunsaturated fatty acids in gestational diabetic rats and their macrosomic offspring. *Clin Sci (Lond).* 2005; 109, 3; 287–295.
39. Khan N. A., Yessoufou A., Kim M., Hichami A. N-3 fatty acids modulate Th1 and Th2 dichotomy in diabetic pregnancy and macrosomia. *J Autoimmun.* 2006; 26(4); 268–277, 2006.
40. Jamilian M, Samimi M, Mirhosseini N, Afshar Ebrahimi F, Aghadavod E, Taghizadeh M, Asemi Z. Randomized Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial Investigating the Effect of Fish Oil Supplementation on Gene Expression Related to Insulin Action, Blood Lipids, and Inflammation in Gestational Diabetes Mellitus-Fish Oil Supplementation and Gestational Diabetes. *Nutrients.* 2018;10(2).
41. Jamilian M, Samimi M, Kolahdooz F, Khalaji F, Razavi M, Asemi Z. Omega-3 fatty acid supplementation affects pregnancy outcomes in gestational diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(4):669-75.
42. Koletzko B, Cetin I, Brenna JT; Perinatal Lipid Intake Working Group; Child Health Foundation; Diabetic Pregnancy Study Group; European Association of Perinatal Medicine; European Association of Perinatal Medicine; European Society for Clinical Nutrition and Metabolism;

European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Committee on Nutrition; International Federation of Placenta Associations; International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. Br J Nutr. 2007;98(5):873-7.

43. SINU (Società Italiana Nutrizione Umana). LARN, 2014. <http://www.sinu.it/html/cnt/larn.asp>

INOSITOLO

CHE COS'È E COME FUNZIONA

L'inositolo è un composto che appartiene alla famiglia delle vitamine del gruppo B, nel passato considerato "essenziale" e recentemente non più ascritto tra i nutrienti essenziali in quanto prodotto in grande quantità nell'organismo a partire dal D-glucosio. Il 99% dell'inositolo in natura è presente nella forma dell'isomero mio-inositolo (MI), il restante 1% è sotto forma di D-chiro-inositolo (DCI). Il MI è un ciclitolo (poli-idrossi-ciclo-alcano) naturalmente presente nelle cellule animali e vegetali. Rappresenta la base strutturale di numerosi secondi messaggeri, partecipando così a vari processi quali lo sviluppo ed il funzionamento dei nervi periferici, l'osteogenesi, la riproduzione ed il metabolismo glucidico (1).

Le maggiori fonti di MI sono:

- 1- **DIETA:** Alimenti di origine animale e vegetale possono contenere MI nella sua forma libera, come fosfolipidi contenenti inositolo, o come acido fitico (inositolo esafosfato o IP6) (2). Le maggiori quantità di MI nelle sue diverse forme si rintracciano in frutta fresca e verdura ed in tutti gli alimenti contenenti semi. Si possono rilevare elevati contenuti di acido fitico in mandorle, noci e noci del Brasile e maggiori quantità di MI in crusca ed avena rispetto ad altre fonti. Tra le verdure e i legumi, i più ricchi di MI sono fagioli e piselli, mentre le verdure a foglia rappresentano la fonte meno cospicua; tra i frutti, il melone e gli agrumi (ad eccezione dei limoni) hanno un elevato contenuto di MI (1,3).

L'ammontare dell'introito giornaliero è circa 900 mg (1), l'assunzione di MI attraverso gli alimenti è compresa tra 225 e 1500 mg/die per 1800 kcal a seconda della composizione della dieta (4). L'inositolo introdotto con la dieta viene assorbito dalla mucosa intestinale direttamente se in forma libera, dopo digestione enzimatica se in forma complessa. Una volta in circolo, le cellule effettuano l'uptake dal fluido extracellulare mediante 3 trasportatori specifici: lo SMIT1 e 2 sodio dipendente e l'HMIT che cotrasporta mioinositolo e H⁺ (5). SMIT 1 e 2 sono presenti nel cervello e possono essere responsabili della regolazione dei livelli di MI in questo organo ove la concentrazione è circa 100 volte maggiore rispetto alla periferia (1).

- 2- **SINTESI DE NOVO:** il MI può essere sintetizzato a partire dal D-glucosio in testicoli, fegato, reni e cervello di ratto. Nell'uomo, i reni garantiscono la maggior quota di produzione endogena, circa 4 grammi di inositolo/die, e sono responsabili anche del suo catabolismo. Anche i tessuti extrarenali possono contribuire, ma in misura minore, alla produzione endogena di inositolo (1).

- 3- **FOSFOLIPIDI DI MEMBRANA.**

Il MI può dare origine teoricamente a chiro-, scillo-, muco- e neo-inositolo ma effettivamente, nel ratto, solo il 7-9% del MI si converte in D-chiro-inositolo (DCI), mentre gli altri isomeri sono rappresentati in forma marginale (0,06%) (6). Solo una piccola quota di MI viene legata in modo covalente ai fosfolipidi fornendo la base strutturale di secondi messaggeri quali inositolo trifosfato (IP3) e fosfatidilinositolo fosfato (PIP2 e PIP3). Il Mio ed il Chiro-inositolo fanno strutturalmente parte anche del GPI (glycosyl-phosphatidylinositolo) e degli inositol-fosfoglicani implicati nella via metabolica GPI/IPG attivata dall'insulina (1).

L'esatto meccanismo d'azione tramite cui l'inositolo agisce sulla sensibilità insulinica è tuttora poco chiaro. Semplificando, quando la subunità β del recettore dell'insulina viene fosforilata in presenza di insulina, gli IRSs (Insulin Receptor Substrates) vengono attivati. La fosfatidil inositolo 3-chinasi (PI3K) lega gli IRSs, che portano alla fosforilazione del fosfatidil inositolo, il quale è a monte del pathway che determina l'azione metabolica dell'insulina (7). Si ipotizza quindi che il MI possa migliorare l'insulino-sensibilità implementando la formazione del fosfatidil-inositolo disponibile.

Probabilmente un ruolo chiave giocano anche gli inositol-fosfoglicani IPG-A (Inositol PhosphoGlycan-AMP kinase inhibitor) e IPG-P (Inositol PhosphoGlycan-Phosphatase stimulator) contenenti rispettivamente MI e DCI. Gli IPGs fungono da secondi messaggeri dell'insulina nella via biochimica, proposta da Larner (8), sinergica e parallela a quella canonica: il recettore insulinico è accoppiato ad una proteina G a sua volta accoppiata con una fosfolipasi che, quando il recettore viene attivato, catalizza l'idrolisi di un GPI. In questo modo viene rilasciato un inositol-fosfoglicano contenente DCI che agisce come secondo messaggero sul metabolismo ossidativo del glucosio attivando la PDHP (Pyruvate Dehydrogenase Phosphatase), che a sua volta attiva la PDH (Pyruvate Dehydrogenase) mitocondriale, e sul metabolismo non ossidativo attivando la glicogeno-sintetasi.

L'azione di secondo messaggero del MI promuoverebbe la traslocazione del GLUT-4 nel muscolo scheletrico (9) mentre il DCI sarebbe maggiormente implicato nella glicogenosintesi.

INOSITOLO E DIABETE

Sia modelli animali che esperimenti condotti sull'uomo hanno dimostrato che alterazioni nel metabolismo del MI e del DCI si associano ad insulinoresistenza e diabete.

Nei pazienti con diabete tipo 2 è stata osservata una riduzione dei livelli intracellulari del MI. Tale fenomeno sembra essere dovuto ad una serie di fattori: inibizione dell'uptake cellulare, ridotta sintesi, accumulo di sorbitolo e aumento della degradazione e dell'eliminazione renale (10).

La ridotta capacità della cellula dei soggetti con diabete di incorporare MI può essere spiegata da una parte con la competizione tra glucosio e MI per il trasportatore del MI, giacché le due molecole presentano delle analogie strutturali, dall'altra con l'iperglicemia extracellulare che determina di per sé un ambiente sfavorevole all'uptake. Il meccanismo determinante, però, sembra essere l'eccessivo accumulo cellulare di sorbitolo, prodotto della conversione del glucosio. Altri studi condotti su animali diabetici mostrano una riduzione del MIPS, enzima che rappresenta la tappa fondamentale nella biosintesi del MI, e un incremento del MIOX, enzima responsabile della degradazione del MI. L'up-regulation di questo enzima potrebbe concorrere, attraverso l'attivazione della fibronectina, all'istaurarsi della nefropatia diabetica, che a sua volta determinerebbe "inosituria" e quindi ulteriore deplezione di MI (1).

In realtà l'alterazione del rapporto MI/DCI urinario per ridotta escrezione di DCI e aumentata eliminazione del MI sono stati proposti quale markers di insulino-resistenza nel soggetto diabetico anche senza nefropatia. Alla base di tale fenomeno ci sarebbe un difetto di epimerizzazione da MI a DCI, peraltro in parte insulino-dipendente (11).

Elevate concentrazioni di inositolo e suoi metaboliti sono state riscontrate anche nelle urine di soggetti con GDM (12) e di neonati con IUGR (IntraUterine Growth Restriction) (13).

Studi molto recenti ma tutti effettuati su campioni molto piccoli, hanno esplorato l'effetto della supplementazione di inositolo nel T1DM (14) e nel T2DM (15) con risultati incoraggianti in entrambi i casi.

INOSITOLO E DIABETE GESTAZIONALE

Prevenzione

Una revisione sistematica Cochrane del 2015 (16), includendo quattro studi prospettici randomizzati (tutti condotti in Italia) per un totale di 502 donne arruolate, dimostrava che la supplementazione di inositolo durante le prime fasi della gravidanza riduce l'incidenza di GDM in pazienti a rischio (RR 0.43. incidenza GDM nel gruppo MI 8-18% vs 28% nel placebo). All'OGTT si osservava una riduzione della glicemia a digiuno (differenza media: -4 mg/dl), della glicemia ad 1h (-12 mg/dl) e a 2h (-14 mg/dl) nelle pazienti trattate. I dati non permettevano di rilevare differenze per ipertensione, tipo di parto, incremento ponderale, settimana gestazionale del parto, parto pretermine, macrosomia, peso alla nascita, ipoglicemia neonatale, Distress Respiratorio nel neonato e distocia di spalla. Non venivano riportati dati circa LGA e mortalità perinatale.

In particolare, D'Anna et al nel 2013 (17) osservavano una riduzione del 65% del rischio di sviluppare GDM, una riduzione della glicemia a digiuno e ad 1 h all'OGTT, del peso neonatale e dei casi di macrosomia in donne con familiarità per DM2 non obese (N=220: 110 pazienti trattate con 2000 mg MI + 200 mcg di acido folico/due volte al giorno vs 110 con placebo costituito da 200 mcg di acido folico/due volte al giorno). Qualche anno dopo lo stesso autore con la medesima numerosità campionaria otteneva risultati sovrapponibili circa la riduzione del tasso di GDM in donne obese (18). Malvasi nel 2014 utilizzava una combinazione di 2000 mg MI, 400 mg di DCI, 400 mcg acido folico e 10 mg manganese, in un protocollo condotto su 48 donne (19); Facchinetti nel 2013 in un conference abstract riportava risultati positivi in donne con BMI>27 Kg/m². Lo studio era condotto su 31 gestanti con BMI>27 Kg/m² trattate con 2000 mg di MI+200 mcg acido folico dalla prima visita prenatale confrontate con 60 donne trattate con placebo costituito da acido folico, due volte al giorno (20).

Più recentemente Santamaria et al (21) hanno mostrato su un campione di 220 donne sovrappeso trattate precocemente che l'incidenza di GDM era significativamente minore nel gruppo trattato con MI rispetto al gruppo placebo (11.6% vs 27.4%, p = 0.004) con una riduzione del rischio del 67% (OR 0.33; 95% CI 0.15–0.70). Questo studio insieme ai due RCTs di D'Anna and coll. (17,18) sono stati oggetto di un'analisi secondaria condotta su un totale di 595 gestanti: la supplementazione con 4 mg/die di MI, intrapresa precocemente in gravidanza, si associa non solo a una riduzione del tasso di GDM, ma anche al rischio di parto prematuro e macrosomia in donne a rischio di GDM (22).

Dati contrastanti provengono da un recente RCT (23) effettuato su 240 donne a rischio di GDM per familiarità di primo grado per T2DM e/o T1DM che ha dimostrato come la somministrazione precoce di una combinazione di mionositolo e DCI al dosaggio rispettivamente di 1100 mg (MI) e 27,6 g (DCI) non sia in grado prevenire l'insorgenza di GDM in questa popolazione. Gli Autori auspicano ulteriori studi per esaminare l'efficacia della supplementazione dei diversi dosaggi di inositolo.

Trattamento

Una revisione sistematica Cochrane del 2016 (24) analizzava gli studi sulla supplementazione con MI come trattamento del GDM, includendo nella metanalisi solo due studi, entrambi italiani e mettendo a confronto MI vs placebo. Corrado et al. (25) nel 2011 dimostravano come dopo 8 settimane di trattamento i livelli di adiponectina aumentavano di circa il 30% in donne con GDM non in trattamento insulinico supplementate con MI, così come l'HOMA-IR diminuiva significativamente (di circa il 50%). Matarrelli et al (26) successivamente mostravano come solo il 6% delle donne con iperglicemia a digiuno nel primo trimestre supplementate con MI sviluppava il GDM vs il 70% del gruppo placebo, mostrando un beneficio anche sull'incremento del BMI. Non esistevano differenze sulla necessità di introdurre insulina nei 2 gruppi, mentre relativamente agli outcome fetali, il parto nelle madri trattate con MI avveniva in un'epoca gestazionale più tardiva ed i neonati di donne trattate con MI presentavano un peso alla nascita (espresso in centili) ed una circonferenza addome minori rispetto ai figli di donne trattate con placebo.

La metanalisi (24) effettuata solo su queste 142 pazienti totali (69+73 rispettivamente) non identificava differenze tra le donne trattate con MI rispetto ai controlli in termini di incremento ponderale, necessità di introduzione di insulina, peso alla nascita del neonato, LGA, parto pretermine. Si osservavano evidenze limitate circa la possibilità che il MI possa ridurre la glicemia a digiuno, il BMI e le ipoglicemie alla nascita del neonato. Evidenze limitate erano riportate anche in relazione al prolungamento dell'epoca gestazionale del parto nelle donne trattate con MI. Gli Autori (24), nelle conclusioni, auspicavano, inoltre, trial che includessero donne di etnie diverse, con diversi fattori di rischio e che potessero analizzare dose, frequenza e timing ottimali per la supplementazione.

Un recente studio italiano ha valutato gli effetti della supplementazione con 500 mg/bid di DCI sul controllo metabolico e sugli outcomes materno-fetali. Un campione di 137 gravide affette da GDM è stato randomizzato a ricevere DCI (n = 67) o placebo (n = 70). I risultati hanno mostrato un miglior controllo glicemico in gravidanza (glicemia post-prandiale e numero di dosi di insulina) e un migliore andamento del peso materno e della crescita fetale nelle donne che ricevevano la supplementazione rispetto alle donne che ricevevano placebo (27). Infine un recente studio italiano (28) condotto su 80 donne caucasiche con GDM, ha osservato gli effetti dell'integrazione con diversi stereoisomeri dell'inositolo, a differenti dosaggi, sui livelli di resistenza all'insulina (HOMA-IR) e su alcuni outcomes materno-fetali vs placebo (400 mcg di acido folico). Sono stati utilizzati rispettivamente 4000 mg di mio-inositol più 400 mcg di acido folico (MI), 500 mg D-chiro-inositol più 400 mcg di acido folico (DCI) oppure 1100 mg/27,6 mg mio/D-chiro-inositol più 400 mcg acido folico (MI + DCI). Lo studio ha dimostrato una significativa riduzione dell'HOMA-IR nelle donne trattate con 4000 mg di mio-inositol, così come un incremento ponderale minore. Le donne che assumevano 1100 mg/27,6 mg mio/D-chiro-inositol più 400 mcg acido folico avevano una minore necessità di terapia insulinica intensificata. Tra gli outcomes neonatali, i nati da donne trattate con placebo presentavano un peso alla nascita, espresso in percentili, più alto rispetto a quelli nati da donne trattate con inositol (p = 0,032). I risultati dello studio, pur preliminari, forniscono importanti spunti di riflessione e mostrano la necessità di ulteriori ricerche per individuare quale possa essere il dosaggio ottimale dei vari stereoisomeri dell'inositolo in gravidanza.

QUANTO

La dose che ha mostrato maggiore efficacia nella prevenzione e nel trattamento del GDM è pari a 4000 mg di MI in associazione con 400 mcg di acido folico divisi in 2 dosi (16-18,20-22,24-26). Promettente per il trattamento del GDM è risultato anche il dosaggio di 500 mg di DCI somministrato per due volte al dì (27), anche se sono necessari ulteriori studi per comprendere quale sia il "fenotipo" che possa avvantaggiarsi dei diversi stereoisomeri e delle diverse posologie (28).

Per quanto concerne la sicurezza, solo con dosi superiori ai 12 g/die si sono stati riportati disturbi gastrointestinali (29). Due studi (30,31) suggeriscono che l'inositolo possa stimolare le contrazioni uterine dimostrando come l'ossitocina induca la formazione di inositolo trifosfato nelle cellule di miometrio e ipotizzando che l'inositolo trifosfato possa agire come secondo messaggero per l'ossitocina.

In relazione agli studi sulla sicurezza per il feto, il passaggio transplacentare del MI non sembra essere significativo: il MI materno rappresenta solo il 10% del MI totale fetale (32).

INOSITOLO ED EPIGENETICA

È stato descritto che l'IP4, una piccola molecola di segnale in cui l'inositolo è fosforilato in posizione 1, 4, 5 e 6, ha un'azione di coregolatore epigenetico intervenendo nella deacetilazione degli istoni: la sua presenza, infatti, sembra essere necessaria sia per l'incorporazione dell'istone-deacetilasi HDAC3 in un complesso repressivo sia per la sua attività enzimatica (33). Poiché è noto che i nati IUGR mostrano una predisposizione alla Sindrome Metabolica e che in modelli animali, l'analisi metabolomica ha identificato una correlazione tra il peso alla nascita e i livelli di mioinositolo, è ipotizzabile che il MI possa avere un ruolo nel modificare l'ambiente uterino. In tal senso Seferovic et al hanno descritto ridotti livelli di MI come predittivi di Sindrome Metabolica in modelli murini con ereditarietà IUGR (34).

CONCLUSIONI

Sebbene siano necessari ulteriori studi per confermarne efficacia e sicurezza, allo stato attuale il MI, alla posologia giornaliera di 4000 mg può essere considerato nella prevenzione del GDM in donne caucasiche (Livello I, Forza B).

Il MI alla dose di 4000 mg die può essere utilizzato in donne caucasiche nel trattamento del GDM in ausilio alla Terapia Medica Nutrizionale e agli interventi sullo stile di vita (Livello II, Forza B).

Un solo studio ha mostrato l'efficacia nel trattamento del GDM del DCI alla dose di 500 mg-bid. Sono necessari ulteriori studi che includano donne di diversa etnia, per individuare quale stereoisomero dell'inositolo (MI oppure DCI oppure MI+DCI), quale "fenotipo", con quale posologia ed in che periodo della gravidanza possa produrre effetti benefici per la prevenzione ed il trattamento dell'iperglicemia in gravidanza.

INOSITOLO: SUMMARY BOX

- Il MI può essere considerato nella **prevenzione** del GDM in donne caucasiche.
- Seppur con limitati livelli di evidenza e comunque con la Terapia Medica Nutrizionale e con i cambiamenti dello stile di vita, il MI può essere utilizzato in donne caucasiche nel **trattamento** del GDM.
- Un solo studio ha mostrato l'efficacia del DCI nel trattamento del GDM.
- Sono necessari ulteriori studi per stabilire se e quale stereoisomero dell'inositolo, con quale posologia, con quale durata di supplementazione ed in che periodo della gravidanza possa produrre effetti benefici per la prevenzione ed il trattamento dell'iperglicemia in gravidanza, in quali etnie ed in quali "fenotipi" di donne.

BIBLIOGRAFIA:

1. Croze ML, Soulage CO. Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie*. 2013 Oct;95(10):1811-27.
2. Holub BJ. Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. *Annu Rev Nutr*. 1986;6:563-97.
3. Porcaro G, Filati P, Unfer V. Looking at the Link between Diet and PCOS Onset and Management. *J Nutrition Health Food Sci*. 2016 4(5): 1-5.
4. Clements RS Jr, Darnell B. Myo-inositol content of common foods: development of a high-myo-inositol diet. *Am J Clin Nutr*. 1980 Sep;33(9):1954-67.
5. Fu H, Li B, Hertz L, Peng L. Contributions in astrocytes of SMIT1/2 and HMIT to myo-inositol uptake at different concentrations and pH. *Neurochem Int*. 2012 Jul;61(2):187-94
6. Pak Y, Huang LC, Lilley KJ, Larner J. In vivo conversion of [3H]myoinositol to [3H]chiroinositol in rat tissues. *J Biol Chem*. 1992 Aug 25;267(24):16904-10.
7. Saltiel AR. Second messengers of insulin action. *Diabetes Care*. 1990 Mar;13(3):244-56.
8. Larner J, Brautigan DL, Thorner MO. D-chiro-Inositol glycans in insulin signaling and insulin resistance. *Mol Med*. 2010 Nov-Dec;16(11-12):543-52.
9. Dang NT, Mukai R, Yoshida K, Ashida H. D-pinitolo and myoinositolo stimulate traslocation of glucose transporter 4 in skeletal muscleof C57BL/6 mice. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2010;74(5):1062-7.
10. Şat, İ. G. and Keleş, K. Fitik Asit Ve Beslenmeye Etkisi. *Gıda*. 2004;29:405-09.
11. Kennington AS, Hill CR, Craig J, Bogardus C, Raz I, Ortmeyer HK, Hansen BC, Romero G, Larner J. Low urinary chiro-inositol excretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1990 Aug 9;323(6):373-8.
12. Scioscia M, Kunjara S, Gumaa K, McLean P, Rodeck CH, Rademacher TW. Urinary excretion of inositol phosphoglycan P-type in gestational diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2007 Nov;24(11):1300-4.
13. Dessì A, Atzori L, Noto A, et al. Metabolomics in newborns with intrauterine growth retardation (IUGR): urine reveals markers of metabolic syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011 Oct;24 Suppl 2:35-9.
14. Pintaudi B, Di Vieste G, Bonomo M., The Effectiveness of Myo-Inositol and D-Chiro Inositol Treatment in Type 2 Diabetes. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:9132052.
15. Maurizi AR, Menduni M, Del Toro R, Kyanvash S, Maggi D, Guglielmi C, Pantano AL, Defeudis G, Fioriti E, Manfrini S, Pozzilli P. A pilot study of D-chiro-inositol plus folic acid in overweight patients with type 1 diabetes. *Acta Diabetol*. 2017 Apr;54(4):361-365.

16. Crawford TJ, Crowther CA, Alsweiler J, Brown J. Antenatal dietary supplementation with myo-inositol in women during pregnancy for preventing gestational diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Dec 17;(12):CD011507.
17. D'Anna R, Scilipoti A, Giordano D, Caruso C, Cannata ML, Interdonato ML, Corrado F, Di Benedetto A. Myo-Inositol supplementation and onset of gestational diabetes mellitus in pregnant women with a family history of type 2 diabetes: a prospective, randomized, placebo-controlled study, *Diabetes Care*. 2013 Apr;36(4):854-7.
18. D' Anna R, Di Benedetto A, Scilipoti A, Santamaria A, Interdonato ML, Petrella E, Neri I, Pintaudi B, Corrado F, Facchinetti F. Myo-inositol Supplementation for Prevention of Gestational Diabetes in Obese Pregnant Women: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol*. 2015 Aug;126(2):310-5.
19. Malvasi A, Casciaro F, Minervini MM, Kosmas I, Mynbaev OA, Pacella E, et al. Myo-inositol, D-chiro-inositol, folic acid and manganese in second trimester of pregnancy: a preliminary investigation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(2):270-4.
20. Facchinetti F, Pignatti L, Interdonato ML, Neri I, Bellei G, D'Anna R. Myoinositol supplementation in pregnancies at risk for gestational diabetes. Interim analysis of a randomized controlled trial. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2013;208(1 Suppl):S36.
21. Santamaria A, Di Benedetto A, Petrella E, Pintaudi B, Corrado F, D'Anna R, Neri I, Facchinetti F., Myo-inositol may prevent gestational diabetes onset in overweight women: a randomized, controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016 Oct;29(19):3234-7.
22. Santamaria A, Alibrandi A, Di Benedetto A, Pintaudi B, Corrado F, Facchinetti F, D'Anna R. Clinical and metabolic outcomes in pregnant women at risk for gestational diabetes mellitus supplemented with myo-inositol: a secondary analysis from 3 RCTs. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 May 30. pii: S0002-9378(18)30428-9.
23. Farren M, Daly N, McKeating A, Kinsley B, Turner MJ, Daly S. The prevention of Gestational Diabetes Mellitus with antenatal oral Myoinositol supplementation: a randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2017 Jun;40(6):759-763.
24. Brown J, Crawford TJ, Alsweiler J, Crowther CA. Dietary supplementation with myo-inositol in women during pregnancy for treating gestational diabetes, *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Sep 7;9:CD012048.
25. Corrado F, D'Anna R, Di Vieste G, Giordano D, Pintaudi B, Santamaria A, Di Benedetto A., The effect of myoinositol supplementation on insulin resistance in patients with gestational diabetes. *Diabet Med*. 2011 Aug;28(8):972-5
26. Matarrelli B, Vitacolonna E, D'Angelo M, Pavone G, Mattei PA, Liberati M, Celentano C. Effect of dietary myo-inositol supplementation in pregnancy on the incidence of maternal gestational diabetes mellitus and fetal outcomes: a randomized controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 Jul;26(10):967-72.
27. Di Biase ND, Martinelli M, Florio V, Meldolesi C and Bonito M. The Effectiveness of D-Chiro Inositol Treatment in Gestational Diabetes. *Diabetes Case Rep*. 2017;2:131.

28. Fraticelli F., Celentano C., Zecca I.AL., Di Vieste G., Pintaudi B., Franzago M., Di Nicola M., Vitacolonna E. Acta Diabetol. 2018 May 17.doi: 10.1007/s00592-018-1157-4.
29. Carlomagno G, Unfer V. Inositol safety: clinical evidences. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011 Aug;15(8):931-6.
30. Phaneuf S, Europe-Finner GN, Carrasco MP, Hamilton CH, López Bernal A. Oxytocin signalling in human myometrium. Adv Exp Med Biol. 1995;395:453-67.
31. Colodny L, Hoffman RL. Inositol—clinical applications for exogenous use. Altern Med Rev. 1998 Dec;3(6):432-47.
32. Staat BC, Galan HL, Harwood JEF, et al. Transplacental supply of mannose and inositol in uncomplicated pregnancies using stable isotopes. J Clin Endocrinol Metab. 2012 Jul;97(7):2497-502.
33. Kutateladze TG. HISTONE DEACETYLATION: IP4 is an epigenetic coregulator: Inositol tetraphosphate is required for both the incorporation of the histone deacetylase HDAC3 into a repressive complex and its enzymatic activity. Nat Chem Biol. 2012 Feb 15;8(3):230-1.
34. Seferovic MD, Goodspeed DM, Chu DM, et al. Heritable IUGR and adult metabolic syndrome are reversible and associated with alterations in the metabolome following dietary supplementation of 1-carbon intermediates. FASEB J. 2015 Jun;29(6):2640-52.

PROBIOTICI

COSA SONO E COME FUNZIONANO

Si definisce **probiotico** un microrganismo vivo e vitale capace di apportare, ingerito in adeguate quantità, definiti benefici alla salute dell'ospite (1). Il **prebiotico** è un componente o ingrediente alimentare, fermentato dalla flora batterica intestinale, in grado di determinare un'azione benefica sull'ospite promuovendo selettivamente la crescita e/o l'attività di una o più specie batteriche, già presenti nel tratto intestinale (1,2). I **simbiotici** rappresentano la combinazione di prebiotici e probiotici in cui, nei microrganismi vivi ingeriti, si potenzia la sopravvivenza e l'attecchimento nel tratto gastrointestinale (1).

Comunemente presenti o addizionati a prodotti caseari quali yogurt, cibi fermentati ed alcuni formaggi, nonché presenti in preparazioni specifiche per la supplementazione della dieta, i probiotici agirebbero modulando la flora intestinale.

PROBIOTICI E DIABETE

I meccanismi fisiopatogenetici attraverso cui la disbiosi intestinale potrebbe concorrere all'instaurarsi del diabete tipo 2 e del diabete tipo 1 sono diversi. Le basi teoriche su cui si basa l'ipotesi di un rapporto causa-effetto tra microbiota e obesità, insulinoresistenza, sindrome metabolica e diabete tipo 2 sono principalmente tre: la capacità dei microrganismi intestinali di idrolizzare polisaccaridi, altrimenti indigeribili in monosaccaridi assorbibili, determina un aumento nell'intake di glucosio ed acidi grassi e quindi promuove l'incremento ponderale; l'attivazione della protein-chinasi AMP-associata, comporta il passaggio da un metabolismo anabolico ad uno catabolico (3); la composizione del microbiota intestinale contribuisce all'infiammazione cronica di basso grado che è propria dell'obesità.

Per quanto concerne le caratteristiche peculiari del microbiota dell'obeso, è stato osservato in numerosi studi un inappropriato rapporto Bacteroidetes /Firmicutes (B/F) (4-7), con una riduzione dei batteri che producono butirrato, un aumento della degradazione del muco, una potenziale compromissione della barriera epiteliale, un'amplificazione dello stress ossidativo. Una dieta equilibrata ricca di fibre e un ridotto contenuto energetico comportano un profondo rimaneggiamento della composizione del microbiota che sembra produrre un effetto positivo su tutti i componenti della sindrome metabolica tranne che sul grado d'infiammazione (8). Numerosi studi, infine, associano una riduzione dell' α -diversità con obesità ed insulinoresistenza. (4,6)

L'ipernutrizione, le diete occidentali, i cibi dei paesi industrializzati potrebbero, quindi, rappresentare il primo step nelle modificazioni a carico del microbiota intestinale che a sua volta determinerebbe alterazioni nel metabolismo dei lipidi, l'istaurarsi di steatosi epatica ed infine uno stato di infiammazione sistemica (8). Nonostante i pochi studi, la piccola dimensione dei campioni analizzati e la non omogeneità tra soggetti studiati e controlli, tutti gli studi in questione dimostrano un'alterazione più o meno sostanziale del microbiota intestinale nei pazienti affetti da DM2 con un'ulteriore distinguo per quelli con "prediabete" (9): il microbiota dei diabetici di tipo 2 aumenta il trasporto di zuccheri semplici e degli aminoacidi ramificati attraverso la barriera intestinale, lo stress ossidativo e l'infiammazione, mentre riduce la produzione di butirrato, di solfato e di vitamine (9-11). Partendo da questi risultati è stata elaborata l'ipotesi che alla patogenesi del diabete tipo 2 possa concorrere una "infezione metabolica", cioè, il superamento della barriera epitelio-mucosa e la penetrazione nel tessuto adiposo da parte di alcuni microrganismi intestinali non patogeni (12).

Per quanto riguarda il diabete tipo 1, la relazione con il microbioma intestinale sembra essere profondamente diversa. Seppur ad etiologia ancora sconosciuta, il diabete tipo 1 riconosce nella sua patogenesi fattori genetici più o meno noti e fattori ambientali, che potrebbero rappresentare trigger scatenanti la malattia quali la dieta, l'uso di antibiotici, l'igiene e la modalità del parto. Molti di questi fattori influenzano il microbioma intestinale (13); i microrganismi in questione condizionano la permeabilità intestinale, il cui aumento, a sua volta, può facilitare il passaggio di antigeni luminali potenzialmente diabetogeni e quindi innescare l'autoimmunità beta pancreatica.

PROBIOTICI E GRAVIDANZA

Durante il terzo trimestre di gravidanza, il microbiota contribuisce ad indurre uno stato metabolico nella madre orientato verso un'incrementata estrazione energetica ed un più intenso stato infiammatorio. Tali modificazioni potrebbero concorrere al potenziamento dell'insulinoresistenza materna, favorendo in questo modo l'approvvigionamento del feto a scapito della madre (14). L'incremento della concentrazione di Lattobacilli nell'ultimo trimestre potrebbe essere funzionale al nascituro, che, acquisendo tale pattern microbico, si preparerebbe a trarre il massimo vantaggio in termini energetici dal lattosio presente nel latte materno, principale fonte nutrizionale del neonato (15).

Sebbene manchino trial con un'adeguata numerosità del campione, sembra che il trattamento con probiotici migliori anche alcuni fra i più significativi outcomes materno fetali quali il parto pretermine (modulando la cascata infiammatoria), le preeclampsia, il profilo lipidico materno e l'adeguato incremento ponderale del bambino nei primi 4 anni di vita (16).

PROBIOTICI E DIABETE GESTAZIONALE

Prevenzione

Se dunque consideriamo il microbiota un elemento condizionante l'assetto metabolico in gravidanza, dobbiamo anche considerare i probiotici, i prebiotici ed i simbiotici quali possibile trattamento modulatore. Già nel 2009 Laitinen et al, randomizzando al primo trimestre di gravidanza 256 donne, di cui il 7% obese ed il 21% sovrappeso, in tre gruppi dieta/placebo, dieta/probiotico, controllo/placebo, dimostrarono che nel gruppo dieta/probiotico (*Lactobacillus rhamnosus* GG e *Bifidobacterium lactis* Bb12, 10^{10} CFU) il tasso di GDM, seppur diagnosticato non con criteri diversi da quelli dell'IADPSG, risultava ridotto del 60% (13% vs 36% dieta/placebo, $P = 0.003$). La supplementazione con probiotici inoltre migliorava i valori di glicemia digiuno sia al terzo trimestre di gravidanza (4.45, 4.60 e 4.56 mmol/L per i gruppi dieta/probiotici, dieta/placebo e controllo/placebo, rispettivamente; $P = 0.025$) che a 12 mesi dal parto (4.93, 5.22 e 5.06 mmol/L; $P = 0.060$), con una riduzione significativa dell'insulinemia e dell'HOMA index, senza differenze in termini di outcomes fetali (17-20). Uno studio neozelandese (21), disegnato in origine per valutare lo sviluppo di eczema o dermatite atopica nel neonato e condotto su un totale di 423 donne, non ha documentato una riduzione significativa della prevalenza di GDM (RR 0,59; 95%CI 0,32-1,08; $p=0,08$) nelle 212 donne trattate con *Lactobacillus rhamnosus* HN001 rispetto alle 211 trattate con placebo dalla 14-16ma settimana di gestazione. Considerando che la popolazione in analisi era non selezionata, non sorprende come risultati più incoraggianti siano stati ottenuti in sottogruppi "a rischio": le donne con GDM "più severo", identificate cioè con i criteri di diagnosi neozelandesi (Glicemia a digiuno: 99 mg/dl; glicemia dopo 1 ora: 162 mg/dl) (RR 0,32; 95%CI 0,11-0,96; $p=0,03$), le donne >35 anni in cui si osservava una riduzione del rischio di circa 3 volte (RR 0,31; 95%CI 0,12-0,81; $p=0,009$), le donne con pregresso GDM (RR 0,0; 95%CI 0,0-0,66; $p=0,004$).

Lindsay e coll, dopo aver pubblicato una review (22) in cui riconoscevano ai probiotici la capacità di migliorare il metabolismo materno attraverso modificazioni del microbiota intestinale, hanno condotto un RCT doppio cieco su 63 obese in gravidanza trattate per 4 settimane con *Lactobacillus salivarius* CFU 10^9 e 75 trattate con placebo non osservando alcuna differenza fra i due gruppi in termini di glicemia ed insulinemia all'OGTT e di incidenza di GDM (seppur diagnosticato secondo i criteri di Carpenter Coustan su un OGTT con 100 g di glucosio), dei principali outcomes materno fetali (23).

Una revisione sistematica Cochrane del 2014 (24) concludeva che la supplementazione con probiotici potrebbe essere efficace nella prevenzione del GDM, in assenza di dati adeguati a valutare l'effetto sugli outcomes avversi fetali.

Infine, è in corso lo studio SPRING (25), un RCT doppio cieco di un gruppo australiano volto a valutare l'efficacia della supplementazione con probiotici dalle fasi precoci della gravidanza su un campione consistente (270 donne trattate con probiotici vs 270 placebo) di donne obese o sovrappeso, ad alto rischio di sviluppare GDM.

La non omogeneità dei risultati degli studi presenti in letteratura può essere spiegata in primo luogo dai diversi ceppi di probiotici impiegati; dalle diverse quantità somministrate; dalle diverse associazioni degli stessi che potrebbero determinare una sinergia di azione o al contrario un fenomeno di antagonismo; dalla differente durata di trattamento e dai diversi periodi della gravidanza in cui sono stati impiegati; infine dalla disomogeneità delle popolazioni studiate (i.e. obese). È opportuno inoltre specificare che nessuno dei suddetti studi è stato in grado di dimostrare un'effettiva modificazione del microbiota intestinale a seguito della supplementazione e che pertanto non sussistono evidenze che possano ricondurre eventuali effetti benefici alla modulazione della flora intestinale.

Trattamento

Un RCT iraniano (26) condotto su un campione di 60 donne con GDM ha osservato un miglioramento dei parametri dell'omeostasi glucidica (FPG: -9.2 ± 9.2 mg/dL vs $+1.1 \pm 12.2$ mg/dL, $P < 0.001$; insulinemia -0.8 ± 3.1 μ IU/mL vs $+4.5 \pm 10.6$ μ IU/mL, $P = 0.01$; HOMA-IR -0.4 ± 0.9 vs $+1.1 \pm 2.5$, $P = 0.003$; QUICKI $+0.007 \pm 0.01$ vs -0.01 ± 0.02 , $P = 0.007$) e del profilo lipidico (trigliceridi -1.6 ± 59.4 mg/dL vs $+27.1 \pm 37.9$ mg/dL, $P = 0.03$; VLDL -0.3 ± 11.9 mg/dL vs $+5.4 \pm 7.6$ mg/dL, $P = 0.03$) nel gruppo che aveva assunto il probiotico (*L. acidophilus*, *L. casei*, *B. bifidum*, 2×10^9 CFU/g ciascuno) per sei settimane durante la gravidanza, in assenza di differenze in termini di outcomes materno-fetali. Impiegando gli stessi ceppi batterici, gli autori hanno sostanzialmente confermato questi risultati in un successivo RCT del 2017 condotto su 60 donne affette da diabete gestazionale: rispetto al placebo, la supplementazione con questi probiotici, utilizzati per 6 settimane, determinava una significativa riduzione della glicemia a digiuno (-0.3 ± 6.7 vs. $+0.03 \pm 9.0$ mg/dL, $p = 0.01$), e della PCR ad alta sensibilità (-2.2 ± 2.7 vs. $+0.5 \pm 2.4$ μ g/mL, $p < .001$), senza però migliorare gli outcomes fetali (27).

Un RCT di piccole dimensioni condotto su 64 donne in gravidanza, con recente diagnosi di GDM, sono state randomizzate a ricevere un probiotico costituito da *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacterium BB-12, *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus* oppure placebo, per una durata di 8 settimane: lo studio ha mostrato che le donne che avevano assunto il probiotico avevano ottenuto una riduzione della glicemia a digiuno, dell'HOMA-IR ed un minore incremento ponderale rispetto al placebo (28). Al contrario uno studio irlandese condotto su 149 donne (di cui più del 40% obese) con diagnosi di GDM (criteri di Carpenter e Coustan) non ha documentato differenze in termini di glicemia a digiuno, insulinemia, HOMA IR, considerando i principali outcomes materno-fetali e la necessità di introdurre terapia farmacologica per il controllo glicemico; fra le partecipanti, le donne che erano state trattate dalla diagnosi fino al parto con *Lactobacillus salivarius* 10^9 CFU mostravano però una riduzione del colesterolo totale e delle LDL rispetto a quelle cui era stato somministrato placebo (29). L'effetto ipolipemizzante dei probiotici potrebbe essere riconducibile al ruolo del microbiota intestinale in alcuni meccanismi quali la deconiugazione degli acidi biliari, l'assimilazione del colesterolo, la produzione di acidi grassi a catena corta con azione inibente la produzione epatica di colesterolo, la conversione del colesterolo in coprostanolo (29).

I suddetti RTC sono stati oggetto di una metanalisi (30) che ha valutato l'efficacia della supplementazione con probiotici per 6-8 settimane durante la gravidanza complicata da GDM. Per quanto riguarda i valori della glicemia a digiuno, il profilo lipidico, l'incremento ponderale e gli outcome fetali, la metanalisi non ha mostrato significative differenze tra i due gruppi; al contrario l'insulinoreistenza, valutata attraverso l'indice HOMA-IR, risultava significativamente ridotta (-0.69 , CI95% $-1.24, -0.14$; $p=0.01$) nelle donne incluse nel gruppo di intervento.

Un studio iraniano condotto su 82 donne con GDM non in trattamento insulinico, di cui 41 assumevano un mix di probiotici (*Streptococcus thermophilus*, Bifidobacterium breve, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus paracasei, and Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus) per 8 settimane ha confermato questi risultati, non riscontrando differenze significative in termini di glicemia a digiuno e di emoglobina glicata, bensì in termini di HOMA-IR (-0.6 ± 1.4 vs 0.5 ± 1.2 ; $p=0.03$) e di alcuni marker infiammatori (IL-6 -0.44 ± 0.5 vs 0.33 ± 0.42 pg/ml; $p=0.04$, TNF- α -0.62 ± 1.0 vs 0.45 ± 0.8 ; $p=0.04$ pg/mL, hs-CRP -796.0 ± 1087.2 vs 975.3 ± 1121.2 ng/mL; $p=0.03$). Non differenze per INF- γ , IL-10. (31)

Gli incoraggianti risultati ottenuti circa la riduzione dello stato infiammatorio in queste pazienti, suggeriscono il possibile meccanismo d'azione mediante cui la supplementazione con probiotici

migliorerebbe l'insulinoresistenza nel diabete gestazionale: la modulazione del microbiota intestinale influenzerebbe lo stato infiammatorio sistemico e locale attraverso la riduzione dei batteri Gram-negativi dotati di lipopolisaccaride (LPS), fattore trigger del processo infiammatorio dipendente dall'attivazione dei toll-like receptor-4 (TLR-4).

SICUREZZA

Non sono stati dimostrati effetti avversi nell'uso di probiotici in gravidanza (32), per quanto alcune specie di Lattobacilli sono state associate ad endocarditi nell'adulto e sepsi nei bambini (33). Una review del 2011 non identificava effetti avversi maggiori dovuti alla supplementazione con probiotici durante gravidanza e allattamento, pur specificando come non vi siano trial disegnati appositamente per valutare outcomes gravidici (34); pertanto è preferibile cautela nella somministrazione di probiotici alle pazienti immunodepresse e/o con patologie gastrointestinali di rilievo.

PROBIOTICI ED EPIGENETICA

Le modificazioni epigenetiche che intervengono sul DNA fetale durante la gestazione possono avere conseguenze a breve e a lungo termine sul fenotipo del nascituro (35). È stato ipotizzato che il microbiota possa avere un ruolo in tal senso agendo sia in modo diretto, una volta colonizzato l'intestino del neonato, sia in modo indiretto, attraverso la madre. Tale rapporto sarebbe, inoltre, di tipo reciproco. Per dimostrare un effetto epigenetico dell'interazione diretta enterocita-batterio/probiotico, Cortese et al hanno esposto cellule di epitelio intestinale umane H4 (fetali, immature) e NCM460 (adulte, mature) a probiotici (*Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium infantis*) e a *Klebsiella* spp. In entrambi i casi sono state osservate significative modificazioni del DNA sia tra i gruppi che rispetto ai controlli non esposti (36).

Se da una parte le informazioni circa un'eventuale azione diretta dei probiotici sono del tutto preliminari, dall'altra parte è noto che le modificazioni del metaboloma nella madre e nel neonato possono essere correlate con gli acidi grassi della dieta, l'infiammazione, l'eccesso di insulina e/o di leptina, l'uso di antibiotici e possono condizionare l'epigenoma del bambino facilitando l'incremento ponderale (15). Considerando che tutti questi fattori influenzano e sono a loro volta influenzati dal microbioma intestinale, è ragionevole supporre che una modulazione del microbioma stesso mediante la somministrazione di probiotici possa determinare modificazioni dei suddetti fattori e quindi del fenotipo del neonato.

CONCLUSIONI

Allo stato attuale, sono auspicabili ulteriori ricerche; nonostante i promettenti risultati di alcuni studi, non esistono chiare e concordi evidenze tali da poter raccomandare l'impiego dei probiotici nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM (Livello VI, Forza C).

PROBIOTICI: SUMMARY BOX

- Attualmente non sussistono evidenze tali da poter raccomandare la supplementazione con probiotici per la prevenzione e/o il trattamento del GDM.
- Sono necessari ulteriori studi per stabilire se e quali ceppi microbici, in quale posologia, con quale durata di supplementazione ed in che periodo della gravidanza possano produrre effetti benefici per la prevenzione ed il trattamento dell'iperglicemia in gravidanza, in quali etnie ed in quali "fenotipi" di donne.

BIBLIOGRAFIA:

1. Giacco R., Costabile G., Vitale M., De Giulio B. l'uso di tecnologie alimentari per la produzione di alimenti funzionali utili nella prevenzione e terapia del diabete tipo 2. *Il Giornale di AMD*, 2012;15:75-83.
2. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995 Jun;125(6):1401-12. Review.
3. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jan 16;104(3):979-84.
4. Turnbaugh Pj, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon Ji (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006 Dec 21;444(7122):1027-31.
5. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 Aug 2;102(31):11070-5.
6. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013 Aug 29;500(7464):541-6.
7. Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr*. 2008 Mar;87(3):534-8.
8. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013 Aug 29;500(7464):585-8.
9. Zhang X, Shen D, Fang Z, et al. Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*. 2013 Aug 27;8(8):e71108.
10. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, et al. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature*. 2013 Jun 6;498(7452):99-103.
11. Qin J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):59-65
12. Amar J, Chabo C, Waget A, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. *EMBO Mol Med*. 2011 Sep;3(9):559-72.
13. Vaarala O. Gut microbiota and type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2012 Winter;9(4):251-9
14. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*. 2012 Aug 3;150(3):470-80
15. Friedman JE. Obesity and Gestational Diabetes Mellitus Pathways for Programming in Mouse, Monkey, and Man –Where Do We Go Next? The 2014 Norbert Freinkel Award Lecture. *Diabetes Care*. 2015 Aug;38(8):1402-11.

16. Gomez Arango LF, Barrett HL, Callaway LK, Nitert MD. Probiotics and Pregnancy. *Curr Diab Rep*. 2015 Jan;15(1):567
17. Laitinen K, Poussa T, Isolauri E; Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology and Intestinal Microbiota Group. Probiotics and dietary counselling contribute to glucose regulation during and after pregnancy: a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2009 Jun;101(11):1679-87.
18. Luoto R, Laitinen K, Nermes M, Isolauri E. Impact of maternal probiotic-supplemented dietary counselling on pregnancy outcome and prenatal and postnatal growth: a double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr*. 2010 Jun;103(12):1792-9
19. Ilmonen J, Isolauri E, Poussa T, Laitinen K. Impact of dietary counselling and probiotic intervention on maternal anthropometric measurements during and after pregnancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Nutr*. 2011 Apr;30(2):156-64.
20. Aaltonen J, Ojala T, Laitinen K, Poussa T, Ozanne S, Isolauri E. Impact of maternal diet during pregnancy and breastfeeding on infant metabolic programming: a prospective randomized controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 2011 Jan;65(1):10-9.
21. Wickens KL, Barthow CA, Murphy R, Abels PR, Maude RM, Stone PR, Mitchell EA, Stanley TV, Purdie GL, Kang JM, Hood FE, Rowden JL, Barnes PK, Fitzharris PF, Crane J. Fitzharris, J Crane. Early pregnancy probiotic supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* HN001 may reduce the prevalence of gestational diabetes mellitus: a randomised controlled trial. *Br J Nutr*. 2017 Mar;117(6):804-813.
22. Lindsay KL, Walsh CA, Brennan L, McAuliffe FM. Probiotics in pregnancy and maternal outcomes: a systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 May;26(8):772-8.
23. Lindsay KL, Kennelly M, Culliton M, Smith T, Maguire OC, Shanahan F, Brennan L, McAuliffe FM. Probiotics in obese pregnancy do not reduce maternal fasting glucose: a double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Probiotics in Pregnancy Study). *Am J Clin Nutr*. 2014 Jun;99(6):1432-9
24. Barrett HL, Dekker Nitert M, Conwell LS, Callaway LK. Probiotics for preventing gestational diabetes. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Feb 27;(2):CD009951.
25. Nitert MD, Barrett HL, Foxcroft K, Tremellen A, Wilkinson S, Lingwood B, Tobin JM, McSweeney C, O'Rourke P, McIntyre HD, Callaway LK. SPRING: an RCT study of probiotics in the prevention of gestational diabetes mellitus in overweight and obese women. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2013 Feb 25;13:50.
26. Karamali M, Dadkhah F, Sadrkhanlou M, Jamilian M, Ahmadi S, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Asemi Z. Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Metab*. 2016 Sep;42(4):234-41.
27. Badehnoosh B, Karamali M, Zarrati M, Jamilian M, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Rahmani E, Asemi Z. The effects of probiotic supplementation on biomarkers of inflammation,

- oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Apr 10;1-9
28. Dolatkhan N, Hajifaraji M, Abbasalizadeh F, Aghamohammadzadeh N, Mehrabi Y, Abbasi MM. Is there a value for probiotic supplements in gestational diabetes mellitus? A randomized clinical trial. *J Health Popul Nutr.* 2015 Nov 25;33:25.
 29. Lindsay KL, Brennan L, Kennelly MA, Maguire OC, Smith T, Curran S, Coffey M, Foley ME, Hatunic M, Shanahan F, McAuliffe FM. Impact of probiotics in women with gestational diabetes mellitus on metabolic health: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Apr;212(4):496.e1-11
 30. Taylor BL, Woodfall GE, Sheedy KE, O'Riley ML, Rainbow KA, Bramwell EL, Kellow NJ. Effect of Probiotics on Metabolic Outcomes in Pregnant Women with Gestational Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients.* 2017 May 5;9(5)
 31. Jafarnejad S, Saremi S, Jafarnejad F, Arab A. Effects of a Multispecies Probiotic Mixture on Glycemic Control and Inflammatory Status in Women with Gestational Diabetes: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Nutr Metab.* 2016;2016:5190846.
 32. Allen SJ, Jordan S, Storey M, Thornton CA, Gravenor M, Garaiova I, Plummer SF, Wang D, Morgan G. Dietary supplementation with lactobacilli and bifidobacteria is well tolerated and not associated with adverse events during late pregnancy and early infancy. *J Nutr.* 2010;140(3):483–488.
 33. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr.* 2006 Jun;83(6):1256-64
 34. Elias J, Bozzo P, Einarson A. Are probiotics safe for use during pregnancy and lactation? *Can Fam Physician.* 2011 Mar;57(3):299-301.
 35. Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, Heine-Suñer D, Cigudosa JC, Urioste M, Benitez J, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Jul 26;102(30):10604-9.
 36. Cortese R, Lu L, Yu Y, Ruden D, Claud EC. Epigenome-Microbiome crosstalk: A potential new paradigm influencing neonatal susceptibility to disease. *Epigenetics.* 2016 Mar 3;11(3):205-15.

CONCLUSIONI

In tutte le donne, la supplementazione con acido folico iniziata preferibilmente tre mesi prima del concepimento (e comunque almeno un mese prima del concepimento) e proseguita per i primi tre mesi di gravidanza previene i difetti congeniti del tubo neurale e di altri distretti; tale pratica è sicura ed è vantaggiosa (Livello I, Forza A).

Le donne ad elevato rischio di NTD, tra le quali le donne affette da diabete, dovrebbero assumere 4-5 mg di acido folico/die (Livello VI, Forza A).

Sarebbe auspicabile un programma nazionale di informazione (attraverso i maggiori mezzi di comunicazione, i social network, le scuole, le università) che possa raggiungere tutte le donne in età fertile. Qualora tale strategia di sensibilizzazione non si mostrasse efficace in termini di aumento della compliance delle donne, potrebbe essere valutata l'ipotesi della cosiddetta "fortificazione" di cereali e legumi, come accaduto in USA ed in Canada. A tal proposito, però, il nostro Paese mantiene un profilo prudentiale, attenendosi alla regolamentazione europea e ammettendo solo la fortificazione volontaria.

Non esistono dati che associano l'utilizzo dei folati con il rischio di diabete gestazionale oppure con il compenso glicemico nella donna diabetica in gravidanza.

Studi osservazionali sembrano suggerire un'associazione tra bassi livelli di Vitamina B12 e il rischio di sviluppare GDM (Livello III, Forza C).

Non esistono, tuttavia, nell'uomo evidenze relative alla supplementazione di Vitamina B12 nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM.

Soprattutto nei soggetti a rischio è opportuno indagare uno stato di carenza che potrebbe essere determinato dall'aumentato fabbisogno della vitamina in gravidanza e durante il puerperio e che potrebbe peggiorare l'outcome della gravidanza stessa.

Allo stato attuale non ci sono evidenze tali da poter supportare la supplementazione con Vitamina D nella prevenzione del GDM (Livello II C), o nel trattamento del GDM (Livello III, Forza C).

L'eterogeneità dei risultati riportati in letteratura, nonostante parziali evidenze circa un'associazione tra ipovitaminosi D e rischio di sviluppare GDM potrebbe essere dovuta a più fattori. In primis, è possibile che per avere degli effetti clinici rilevanti la supplementazione debba essere eseguita nelle primissime fasi della gravidanza o addirittura nella fase preconcezionale, similmente a quanto accade con l'acido folico o con l'attività fisica; in secondo luogo l'associazione tra bassi livelli di Vitamina D e GDM potrebbe non essere di tipo causale: bassi livelli potrebbero essere un marker idoneo ad individuare donne predisposte allo sviluppo di GDM per altri motivi oppure l'associazione potrebbe essere di tipo causale ma individuata in modo inverso: non sarebbero bassi livelli di vitamina D a predisporre al diabete, ma sarebbe la predisposizione al diabete a causare una riduzione della vitamina D o un'alterazione del suo metabolismo. Infine, la vitamina D biodisponibile non è esattamente la 25(OH)D: la quota attiva dipende dalla seconda idrossilazione, dalla concentrazione di VD-binding protein, dall'albumina. nel soggetto con fattori di rischio per GDM, come l'obesità questi parametri potrebbero risultare diversi, mascherando un diverso stato vitaminico. Infine, ancor prima, sarebbe auspicabile definire il range di normalità in gravidanza, almeno per gli effetti scheletrici della 25(OH)D.

Non ci sono sufficienti evidenze, da studi osservazionali e trials clinici randomizzati per raccomandare o escludere la supplementazione di acidi grassi poli-insaturi a lunga catena (LC-PUFA omega-3) in gravidanza per prevenire o trattare il diabete gestazionale.

Diversi studi sembrano tuttavia confermare l'effetto di modulazione sullo stato infiammatorio sistemico e placentare in donne obese ed in quelle con GDM. Inoltre, l'assunzione fino ad 1 gr/die di DHA e a 2,7 gr/die di EPA è stata utilizzata in trials clinici randomizzati senza significativi effetti avversi.

In attesa di ulteriori trials clinici strutturati per comprendere l'efficacia di differenti dosaggi di DHA ed EPA, la supplementazione routinaria di omega-3 PUFA in gravidanza non è raccomandata.

Sebbene siano necessari ulteriori studi per confermarne efficacia e sicurezza, allo stato attuale il MI, alla posologia giornaliera di 4000 mg può essere considerato nella prevenzione del GDM in donne caucasiche (Livello I, Forza B).

Il MI alla dose di 4000 mg die può essere utilizzato in donne caucasiche nel trattamento del GDM in ausilio alla Terapia Medica Nutrizionale e agli interventi sullo stile di vita (Livello II, Forza B).

Un solo studio ha mostrato l'efficacia nel trattamento del GDM di DCI alla dose di 500 mgx2. Sono necessari ulteriori studi che includano donne di diversa etnia, per individuare quale stereoisomero dell'inositolo (MI oppure DCI oppure MI+DCI), quale "fenotipo", con quale posologia ed in che periodo della gravidanza possa produrre effetti benefici per la prevenzione ed il trattamento dell'iperglicemia in gravidanza.

Allo stato attuale, sono auspicabili ulteriori ricerche; nonostante i promettenti risultati di alcuni studi, non esistono chiare e concordi evidenze tali da poter raccomandare l'impiego dei probiotici nella prevenzione e/o nel trattamento del GDM (Livello VI, Forza C).