

INDICE

1 INTRODUZIONE.....	2
1.1 Mutazione MTHFR.....	2
..	
1.2 Complicanze e rischi	4
1.3 Complicanze e rischi in gravidanza.....	6
1.4 Supplementi vitaminici.....	7
2 SCOPO DELLA TESI.....	11
3 MATERIALE E METODI.....	12
3.1 Popolazione di studio.....	12
3.2 Disegno dello studio.....	12
4 RISULTATI.....	13
4.1 Analisi descrittiva del campione.....	13
5 DISCUSSIONE.....	25
6 CONCLUSIONI.....	27
7 SITOGRAFIA E BIBLIOGRAFIA.....	28
8 RINGRAZIAMENTI.....	31

1. INTRODUZIONE

1.1 Mutazione MTHFR

L'enzima 5,10-metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR), che dipende dalla flavina adenina dinucleotide (FAD), catalizza la conversione irreversibile del 5,10-metilenetetraidrofolato in 5-metiltetraidrofolato. Quest'ultimo agisce come donatore di metile nella rimetilazione dell'omocisteina in metionina. L'enzima si colloca in una via metabolica che dirige il pool di folati verso la rimetilazione dell'omocisteina, a discapito della biosintesi di DNA e RNA.

Il ciclo della metionina è un processo metabolico fondamentale per il metabolismo degli amminoacidi e la sintesi di composti essenziali.

I principali passaggi di questo ciclo (figura 1.) partono con la metionina che entra nel circolo e viene convertita in S-adenosilmetionina (SAM) tramite metilazione in cui l'ATP fornisce adenosina; la SAM cede un gruppo metile a vari substrati diventando S-adenosilomocisteina (SAH); viene conseguentemente idrolizzata per formare omocisteina, dopodiché quest'ultima può prendere due vie: la rimetilazione, ossia il 5-metiltetraidrofolato cede un gruppo metile riconvertendosi in metionina grazie all'enzima MTHFR, oppure attraverso un processo di transulfurazione coinvolgendo la vitamina B6 si ottiene la formazione di acido solfinico e successivamente di cisteina.

Se l'omocisteina viene rimetilata il ciclo può ricominciare, se dovesse percorrere la via della sulfurazione e di conseguenza della formazione di cisteina, questo comporterebbe una riduzione dei livelli di omocisteina.

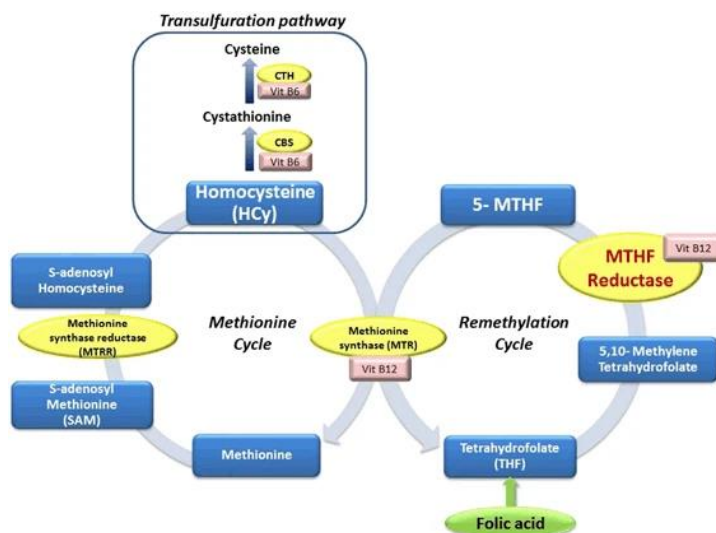


Figura 1. Il ciclo della metionina

Il bilancio tra metionina, cisteina e omocisteina è fondamentale per il corretto funzionamento dell'organismo.

La metionina è un amminoacido utilizzato nella biosintesi delle proteine, ed è fondamentale nella traduzione m-RNA degli eucarioti, si trova in tutte le estremità N perché codificata dal codone di inizio (AUG).

Questo amminoacido è coinvolto nella sintesi di carnitina, taurina, lecitina, fosfatidilcolina e di altri fosfolipidi e partecipa nell'angiogenesi di nuovi vasi sanguigni. La mutazione di questo gene comporta una modifica nella conversione dell'omocisteina in metionina.

Il gene che codifica per l'enzima è situato sul cromosoma 1 (p36.3), contiene 11 esoni, con un intervallo da 102 a 432 bp.

Esistono varie combinazioni della sequenza nucleotidica, nominate polimorfismi genetici.

Sono state individuate 34 mutazioni diverse in pazienti con omocistinuria, ossia livelli elevati di omocisteina, utilizzando metodologie di SSCP (single strand conformation polymorphism) ed il sequenziamento diretto da PCR o RT-PCR.

Queste mutazioni sono state classificate in 8 nonsense, 23 missenso, 1 delezione e 2 varianti di giunzione.

Le più studiate ed individuate sono A1298C e C677T.

A1298C indica il nucleotide citosina (C) in posizione 1298 del gene al posto dell'adenosina (A).

Questa sostituzione comporta la produzione di Alanina invece della Glutammina, comportando una ridotta attività dell'enzima ed un incremento dell'omocisteina.

C677T indica il nucleotide timina (T) in posizione del 677 nell'esone 4 del gene invece del nucleotide della citosina (C).

Si presenta una sostituzione da parte dell'amminoacido Valina sostituendo l'Alanina; si otterrà anche qui una riduzione dell'attività enzimatica e maggiori livelli di omocisteina nel circolo.[1]

Entrambe le mutazioni si possono presentare in eterozigosi, ossia un solo gene dei due è modificato, oppure in omozigosi comportando la modifica di entrambi i geni.

Attualmente solo queste due hanno espresso e confermato l'inibizione dell'attività enzimatica.

1.2 Complicanze e rischi

L'enzima MTHFR è responsabile della regolazione della disponibilità di 5-MTHF per la rimetilazione dell'omocisteina, ma le conseguenze patologiche delle varianti del gene MTHFR non possono essere attribuite esclusivamente all'aumento dei livelli di omocisteina.

Esiste, infatti, un dibattito riguardo i meccanismi sottostanti siano causati dall'innalzamento dei livelli di omocisteina, dalla carenza di acido folico o da una combinazione di entrambi.

L'iperomocisteinemia è presente nel 5% della popolazione generale ed è correlata a un rischio maggiore di diverse condizioni patologiche, come malattie cardiovascolari e cerebrovascolari, disturbi neurodegenerativi, malattie autoimmuni, difetti congeniti, diabete, disturbi neuropsichiatrici, cancro e malattie renali.

La mutazione MTHFR coi suoi polimorfismi è stata studiata come candidato tra i fattori genetici per rischio cardiovascolare, per la relazione tra iperomocisteinemia e rischio importante non tradizionale per aterosclerosi.

Solo attraverso la via di rimetilazione dipendente da acido folico e vitamina B12 le cellule endoteliali possono eliminare l'omocisteina in eccesso, per questo motivo l'attività normale degli enzimi MTHFR e metionina sintasi è fondamentale per regolare l'incremento dell'omocisteina senza raggiungere un range patologico nelle cellule vascolari endoteliali.

Di conseguenza, l'aterosclerosi si può sia aggravare che avviare per i livelli alti di omocisteina danneggiando i vasi sanguigni.

Un potenziale meccanismo che preoccupa è l'attività pro-tromboplastica dell'omocisteina. La superficie dell'endotelio vascolare mantiene un equilibrio tra fattori coagulanti e anticoagulanti. L'omocisteina disturba questo equilibrio, favorendo uno stato coagulante attraverso la stimolazione della produzione di tromboplastina A2 dalle piastrine. Inoltre,

elevati livelli di omocisteina attivano il fattore V e ostacolano l'attivazione della proteina C, così come l'espressione della trombomodulina. Infine, essa influisce sull'attività delle sostanze anticoagulanti, riducendone l'efficacia e inibendo la sintesi del DNA.

Studi hanno indicato che la mutazione sia un potenziale rischio per ictus in diverse etnie, riguardo ciò studi clinici suggeriscono che il rischio di ictus può essere modificato dallo stato dei folati.

Livelli elevati di omocisteina sono legati a un aumento del rischio di coaguli di sangue nelle vene. Questi coaguli possono formarsi nelle estremità, in particolare nelle gambe, e sono noti come trombosi venosa profonda (TVP); possono anche manifestarsi nei polmoni, dando origine a un'embolia polmonare (PE). Un livello di omocisteina più alto è associato a un rischio maggiore. Tuttavia, nel complesso, il rischio di TVP e PE è solo leggermente aumentato e sebbene un'alta omocisteina rappresenti un fattore di rischio per un primo episodio di TVP o PE, non prevede un rischio maggiore di coagulazione ricorrente una volta che il paziente ha interrotto il trattamento con anticoagulanti. Pertanto, la presenza di omocisteina elevata non influisce sulla durata del trattamento anticoagulante [3].

Quindi gli esperti concordano sul fatto che la valutazione delle mutazioni MTHFR non dovrebbe essere inclusa nel pannello di test per la trombofilia.

Le malattie renali sono associate a un aumento del rischio di malattie cardiovascolari e a una marcata elevazione dell'omocisteina. Recentemente, i pazienti renali con genotipo TT, genotipo omozigosi C677T, sono risultati più suscettibili all'iperomocisteinemia rispetto a quelli con genotipo CC, altro genotipo omozigosi C677T. Come nei soggetti sani, la concentrazione di folato sierico era più bassa e la retta di regressione tra omocisteina e folato era più ripida nei pazienti con il genotipo TT, ma i pazienti con questo genotipo rispondevano prontamente alla supplementazione di acido folico ad alte dosi - come si evinceva dalla riduzione della omocisteina e raggiungevano più spesso concentrazioni normali di essa.

Nei pazienti con problemi renali, l'omocisteina predice la mortalità e la morbilità cardiovascolare. Il genotipo TT può influire negativamente sull'esito clinico dell'insufficienza renale ed è stato anche associato alla nefropatia nei diabetici con una bassa concentrazione di folato.

Tuttavia, l'American Heart Association e il Collegio di Genetica e Malattie Rare non raccomanda il test per i polimorfismi genetici dell'MTHFR per trombosi venosa o coronaropatia, ma per rare forme di omocistinuria causate da mutazioni bi-alleleliche [2]. Il polimorfismo MTHFR C677T potrebbe influenzare il rischio di nefropatia diabetica, ma non quello di diabete mellito nella popolazione cinese [4]. È stata osservata un'associazione tra il polimorfismo MTHFR C677T e il rischio di nefropatia diabetica, in aggiunta all'aumento del rischio riscontrato nelle popolazioni caucasiche con diabete di tipo 2. Questo polimorfismo è risultato significativamente associato al diabete anche tra le popolazioni arabe e potrebbe rappresentare un fattore genetico di rischio per il diabete mellito di tipo 2 nella popolazione cinese. Tuttavia, in una revisione che ha esaminato popolazioni di etnie asiatica, caucasica e africana, non è emersa alcuna associazione tra questo polimorfismo e il diabete mellito [5].

1.3 Complicanze e rischi in gravidanza

Il polimorfismo (o i polimorfismi) del gene MTHFR è ampiamente riconosciuto come un fattore di rischio per la formazione di trombi e il tromboembolismo venoso, ed è stato collegato a malattie cardiovascolari, come la malattia coronarica. L'iperomocisteinemia e i disturbi metabolici associati all'omocisteina sembrano svolgere un ruolo cruciale nell'insorgenza di complicanze ostetriche indesiderate e di eventi trombotici. La rimetilazione equilibrata dell'omocisteina e la trans-solfurazione sono vie metaboliche fondamentali, poiché l'omocisteina è una tossina vascolare capace di causare danni all'endotelio in vari organi. È probabile che alti livelli di omocisteina siano responsabili del danneggiamento delle "strutture cellulari dello spazio intervilloso", comprese le cellule endoteliali delle vene a spirale, i trofoblasti endovascolari alle estremità delle arterie a spirale, i sinciziotrofoblasti, le cellule epiteliali superficiali/ghiandolari della decidua e le cellule deciduali/sertoliane [6]. Rispetto alle donne non gravide, il livello di omocisteina è più basso nelle gravidanze a basso rischio, dovuto da una emodiluizione per aumento del volume ematico ed una maggiore velocità di filtrazione glomerulare.

A inizio gravidanza si riduce il livello di omocisteina e raggiunge il minimo nel secondo trimestre, dopodiché aumenta verso fine gravidanza raggiungendo quasi il valore preconcezionale.

Un alto livello di omocisteina favorisce la produzione di perossido di idrogeno e radicali liberi, portando un danno ossidativo alle cellule endoteliali, minor numero di vasi sanguigni nei villi e minor perfusione della circolazione sanguigna materno-fetale.

Un alto valore di omocisteina, inoltre, promuove apoptosi cellulare inducendo danneggiamento al trofoblasto e portando un accumulo di piastrine comportando un maggior rischio di trombosi e perfusione placentare [7].

Le principali disfunzioni in gravidanza associate a mutazione MTHFR e dunque valori aumentati di omocisteina sono principalmente aborto spontaneo ricorrente, preeclampsia, ipertensione gestazionale, ritardo di crescita intrauterino (IUGR), parto pretermine, distacco di placenta e diabete gestazionale.

Tuttavia, The Royal College of Obstetricians and Gynecologists (RCOG) suggeriscono di non testare routinariamente donne con aborti spontanei ricorrenti per la mutazione MTHFR [8].

1.4 Supplementi vitaminici

In gravidanza è fondamentale l'inserimento di vitamine supplementari per il corretto sviluppo fetale, specie quelli che non riusciamo ad integrare completamente con la sola alimentazione.

Principalmente si tende ad integrare i micronutrienti come vitamina A, acido folico, vitamina B, vitamina C, vitamina D.

La vitamina A fa parte della classe dei retinoidi ed è fondamentale per il buon funzionamento della vista, un ottimale sviluppo osseo ed una miglior risposta immunitaria.

La si trova principalmente in alimenti come latticini, fegato, uova e verdure di color giallo, rosso ed arancione.

Secondo l'OMS non è contemplata la supplementazione dove l'assunzione è 3 volte superiore la Recommended Daily Allowance 2400 µg, ossia nella maggior parte dei paesi sviluppati.

La vitamina B si divide in otto sottocategorie, ognuna con la propria funzione [9].

- B1: tiamina; è un cofattore della tiamina pirofosfato, converte i carboidrati in energia e supporta il sistema nervoso e cardiocircolatorio
- B2: riboflavina; utilizzata nella produzione di flavina mononucleotide e flavina adenina dinucleotide, diminuisce lo stress ossidativo cellulare, migliora il metabolismo del ferro e globuli rossi.
- B3: niacina; favorisce l'azione della nicotinammide adenina dinucleotide (NAD) e nicotinammide adenina dinucleotide fosfato (NADP) che sono coinvolti nel metabolismo energetico cellulare
- B5: acido pantotenico; fa parte del Coenzima A necessario per il metabolismo energetico e contribuisce all'attività surrenalica, steroidea, alla regolazione del colesterolo e regola la produzione della vitamina D.
- B6: piridossina; supporta la formazione di cisteina e composti strutturali come proteine, la sintesi di sostanze chimiche nel sistema nervoso, la formazione di globuli rossi e migliora il sistema immunitario
- B7: biotina; contribuisce alla salute di capelli e pelle.
- B12: cobalamina; è una vitamina idrosolubile che proviene da fonti animali, come carne rossa, latticini e uova. Il fattore intrinseco, una glicoproteina prodotta dalle cellule parietali dello stomaco, è essenziale per l'assorbimento della B12 nell'ileo terminale. Una volta assorbita, la B12 funge da cofattore per enzimi coinvolti nella sintesi dell'acido desossiribonucleico (DNA), degli acidi grassi e della mielina. Pertanto, una carenza di B12 può dare origine a sintomi ematologici e neurologici. Sebbene la B12 venga immagazzinata in

eccesso nel fegato, se l'assorbimento è compromesso per un periodo prolungato (come in caso di insufficienza alimentare, malassorbimento o mancanza di fattore intrinseco), le riserve epatiche si esauriscono, portando a una carenza. È un cofattore per l'enzima metionina sintasi, che è coinvolto nella conversione dell'omocisteina in metionina. Come sottoprodotto di questa reazione, il metiltetraidrofolato (metil-THF) viene convertito in tetraidrofolato (THF), che si trasforma in intermedi necessari per la sintesi delle basi pirimidiniche del DNA. In caso di carenza di B12, l'omocisteina non può essere convertita in metionina, e di conseguenza il metil-THF non si trasforma in THF. Questo porta all'accumulo di omocisteina e all'impossibilità di formare le basi pirimidiniche, rallentando così la sintesi del DNA e causando anemia megaloblastica. L'anemia provoca sintomi come affaticamento e pallore, frequentemente osservati nei pazienti con carenza di B12.

Si raccomanda dunque l'assunzione di cinque porzioni alla settimana di frutta e verdura, due porzioni alla settimana di legumi, assumendo occasionalmente frutta secca e di preferire i cereali integrali.

La si può trovare anche in alimenti come carne, uova e pesce e latticini.

In caso non sia sufficiente si raccomanda una supplementazione tramite integratori [10].

- B9: Acido Folico; il nostro corpo utilizza l'acido folico per produrre nuove cellule. La vitamina B9 è fondamentale per la sintesi del DNA e delle proteine, nonché per la formazione dell'emoglobina, grazie a meccanismi ancora non completamente compresi. Risulta particolarmente importante per i tessuti che subiscono processi di proliferazione e differenziazione, come i tessuti embrionali. Negli ultimi decenni, l'acido folico è stato riconosciuto come essenziale nella prevenzione di alcune malformazioni congenite, in particolare quelle legate al tubo neurale come la spina bifida e l'anencefalia. Inoltre, si ipotizza che possa contribuire anche alla prevenzione di altri difetti e malformazioni congenite, come la labio-palatoschisi e alcuni difetti cardiaci.

Le linee guida nazionali (SIGO) stabiliscono l'assunzione supplementare di acido folico 400µg almeno 30 giorni del concepimento e fino ad almeno 3 mesi di gestazione [11].

Per essere metabolicamente attivo, l'acido folico sintetico deve essere convertito in THF e successivamente in 5-MTHF, con la MTHFR che svolge un ruolo cruciale in questo processo. Inoltre, essa regola l'equilibrio tra i folati necessari per la sintesi dei nucleotidi e quelli per la sintesi della metionina. Il 5-MTHF è più efficace nel sostenere i folati plasmatici rispetto all'acido folico, sia nella popolazione generale che nei portatori di MTHFR. Il trattamento con 5-MTHF (5-metiltetraidrofolato) ha dimostrato di migliorare le probabilità di gravidanza a termine nelle donne con aborti ripetuti che portano le varianti MTHFR C677T e A1298C. Poiché il 5-MTHF aumenta in modo più efficiente i folati plasmatici "attivi" rispetto all'acido folico, l'assunzione esterna rappresenta una strategia per prevenire problemi precoci di concepimento e aborti spontanei legati all'MTHFR. Al contrario, un eccesso di assunzione di acido folico sintetico può portare alla sindrome UMFA (acido folico non metabolizzato) in questa specifica popolazione, la quale è associata a un aumento del rischio di alcuni tipi di cancro, come quello colon-rettale, alla prostata e, in modo controverso, al seno [12].

Secondo l'AOGOI (Associazione Ostetrici Ginecologici Ospedalieri Italiani) l'integrazione con 5-MTHF durante la gravidanza potrebbe risultare più vantaggiosa rispetto all'acido folico, poiché il 5-MTHF è già attivo e non necessita di attivazione metabolica. È immediatamente biodisponibile sia per la madre che per il feto e non è influenzato da eventuali mutazioni nel gene MTHFR. Inoltre, per le donne in gravidanza con iperomocisteinemia, la disponibilità continua di vitamina B9 può contribuire a ridurre i livelli di omocisteina, che in elevate concentrazioni può causare danni all'endotelio [13].

Per quanto riguarda la vitamina C, non è consigliata una supplementazione in caso di alimentazione completa e corretta.

Riguardo la vitamina D, ad eccezione di donne a rischio ipovitaminosi per questioni alimentari e ambientali, non è altrettanto contemplata una integrazione supplementare.

2. SCOPO DELLA TESI

La consapevolezza di poter prevenire e migliorare la propria salute è un bisogno sempre più attuale, grazie alle nuove tecnologie ed una maggiore rete di informazioni disponibili, inoltre negli ultimi decenni con la scelta della genitorialità programmata ed organizzata, l'attenzione e cura di ogni dettaglio della gravidanza è all'ordine di tutti i giorni; specialmente per quanto riguarda l'integrazione e l'alimentazione.

Come citato nelle linee guida (SIGO, ACOG, RCOG), l'acido folico è la supplementazione più efficace per la prevenzione di malformazioni fetali come spina bifida, anencefalia, malformazioni cardiache ed altre: nonostante ciò, le donne con mutazione MTHFR hanno necessità dell'introduzione di acido folico attivo per il non completo assorbimento dell'acido folico "normale".

Sulla base delle evidenze riportate, questo studio ha l'obiettivo di verificare le conoscenze dell'argomento trattato e di una indagine sulla tipologia dei folati assunti. Inoltre, si pone l'obiettivo di confrontare l'evento dell'aborto spontaneo distinto nelle mutazioni C677T e A1298C.

3. MATERIALE E METODI

3.1 Popolazione di studio

Studio prospettico osservazionale condotto su donne che hanno aderito al sondaggio anonimo pubblicato tramite piattaforme social come Instagram, Facebook e WhatsApp e tramite scannerizzazione di QR-code distribuito a studi e cliniche private di Ginecologi che hanno fornito supporto e adesione allo studio, nel periodo da maggio ad ottobre 2024.

I criteri di inclusione sono stati:

- Donne gravide con mutazione MTHFR;
- Donne non gravide con mutazione MTHFR.

I criteri di esclusione erano rappresentati da:

- Donne senza mutazione MTHFR;
- Uomini con mutazione MTHFR;
- Uomini senza mutazione MTHFR

L'organizzazione e l'analisi dei dati è stata svolta mediante l'uso della piattaforma Excel e della piattaforma R (versione 4.0.2). Il test utilizzato per la correlazione di eventuali dati è il test Chi Quadrato, i grafici sono stati eseguiti tramite Excel.

3.2 Disegno dello studio

Per il reclutamento è stato inviato su piattaforme di Social Media e tramite QR-Code fornito a studi specialistici di Ginecologia privati previo consenso all'adesione, un sondaggio anonimo modulato tramite Google Form di alcuni quesiti inerenti alla vita riproduttiva e non delle donne.

Nel questionario anonimo è stato domandato:

- Età;
- Peso;
- Altezza;
- La conoscenza della mutazione MTHFR;
- Quale mutazione è stata rilevata;
- Quale tipologia della mutazione;
- Il numero totale di gravidanze;
- Se ci fossero stati aborti spontanei;

- Quanti aborti spontanei;
- Il peso in grammi dei neonati vitali;
- Eventuali complicanze in gravidanze;
- Che tipologia di parto hanno effettuato;
- A quante settimane è avvenuto il parto;
- Diagnosi o meno di Ovaio Policistico;
- Presenza di problemi circolatori;
- Se la donna è a conoscenza della funzione dell'acido folico;
- Se fuma;
- La presenza di altre mutazioni genetiche;
- Storia di malattie trombotiche familiari;
- La provincia di residenza;
- Il sesso dei feti;
- Se avessero mai avuto gravidanze gemellari;
- La tipologia di acido folico assunta.

4. RISULTATI

4.1 Analisi descrittiva del campione

Nel periodo di studio, un totale di 55 donne ha partecipato allo studio.

L'età comprendeva un minimo di 25 anni ed un massimo di 67 con una mediana di 37, una media di 37.43 con DS 7.24.

Lo studio si è esteso in 19 province diverse, con una prevalenza della regione Marche: Ancona(n=30), Pesaro Urbino(n=5), Macerata(n=3), Ascoli Piceno(n=1), Roma(n=2), Matera(n=1), Milano(n=1), Bari(n=1), Verona(n=1), Treviso(n=1), Venezia(n=1), Lucca(n=1), Parma(n=1), Vicenza(n=1), Lecce(n=1), Taranto(n=1), Enna(n=1), Teramo(n=1), Trapani(n=1).

Conoscenza dell'argomento

La prima domanda del quesito era la conoscenza della mutazione MTHFR con una percentuale del 89.1% (n=49) di risposte affermative riguardo la patogenesi della mutazione ed un 10.9% (n=6) di risposta negativa.

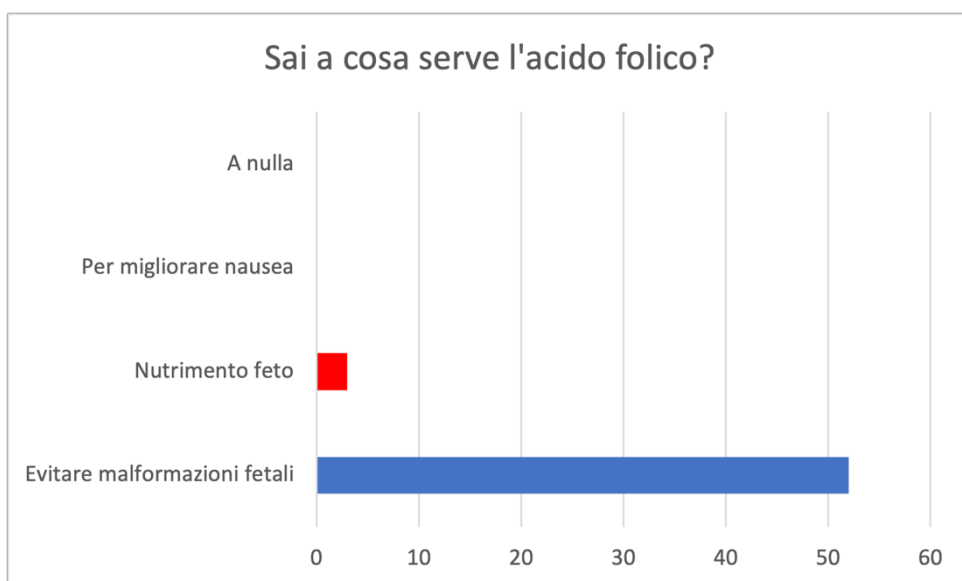


Successivamente è stato domandato se conoscessero la funzione dell'acido folico in gravidanza, fornendo quattro soluzioni:

per nutrire il feto, per evitare malformazioni fetali, per migliorare la nausea oppure nessuna funzione fondamentale.

Il 94.5% (n=52) ha risposto correttamente riferendosi all'acido folico come supplemento per evitare malformazioni fetali;

il 5.5% (n=3) ha selezionato l'opzione del nutrimento fetale, mentre nessuna donna ha selezionato le opzioni della nausea e dell'inutilità dell'acido folico.



La tipologia di mutazione

Sono state riscontrate 3 tipologie diverse nel macrogruppo della mutazione MTHFR, ossia C677T, A1298C oppure entrambe.

Le donne con mutazione C677T occupano il 78.2 % (n=43);

le donne con mutazione A1298C il 14,5% (n=8);

le donne con entrambe le mutazioni C677T+ A1289C il 7.3% (n=4).

Nello specifico, identificando la tipologia del genotipo è emerso:

il 40% (n=22) presenta la mutazione C677T in omozigosi;

il 38.2% (n=21) presenta la mutazione C677T in eterozigosi;

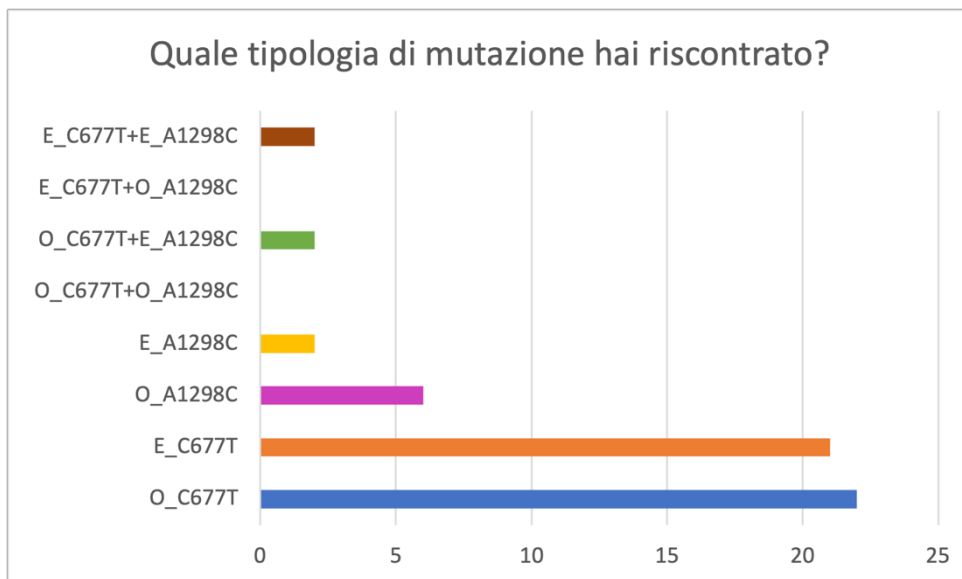
il 10.9% (n=6) presenta la mutazione A1298C in omozigosi;

il 3.6% (n=2) presenta la mutazione A1298C in eterozigosi;

il 3.6% (n=2) presenta la mutazione C677T in omozigosi e la mutazione A1298C in eterozigosi;

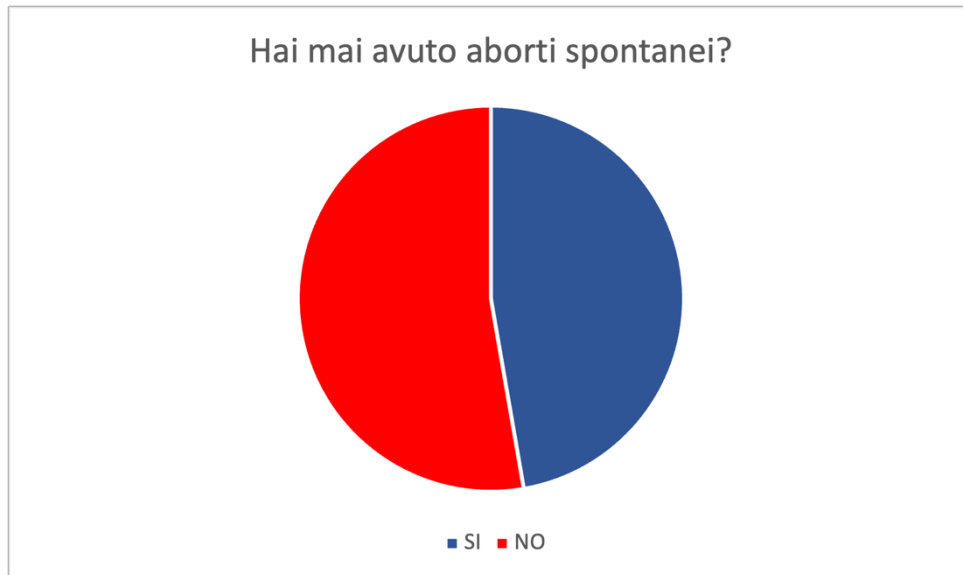
il 3.6%(n=2) presenta le mutazioni C677T e A1298C entrambe in eterozigosi;

non sono stati riscontrati casi di C677T e A1298C entrambe in omozigosi e casi di C677T in eterozigosi e A1298C in omozigosi.



Anamnesi ostetrica e ginecologica

Il 47.3% del campione (n=26) ha riscontrato almeno un aborto spontaneo nella vita, mentre il 52.7% (n=29) non lo ha riscontrato.



Nelle 26 donne che hanno riscontrato aborto spontaneo, è stato rilevato un minimo di 1 ad un massimo di 3, con una media di 1.6 aborti spontanei.

Per quanto riguarda i neonati abbiamo un campione di 79 neonati, il peso di essi è stato rilevato un minimo di 750 grammi ed un peso massimo di 4960 grammi, con una media di 3289,9 grammi DS 679.5 grammi.

Nelle 77 gravidanze rilevate:

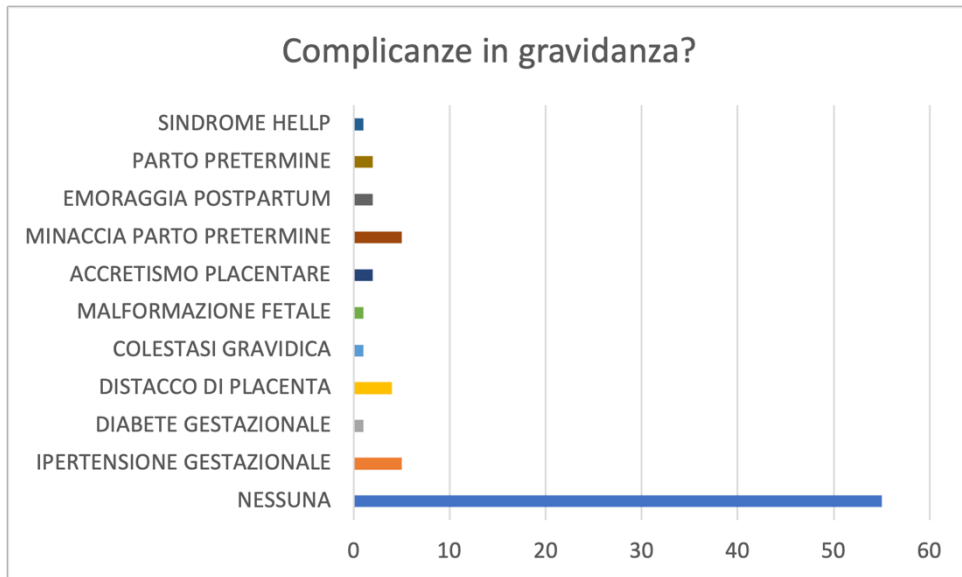
- il 71.4 % non ha portato alcuna complicanza;
- il 6.5% (n=5) ha riscontrato ipertensione gestazionale;
- il 5.2% (n=4) ha riportato un distacco intempestivo di placenta;
- il 2.6% (n=2) ha riscontrato accretismo placentare;
- il 2.6% (n=2) emorragia post partum;
- l'1.3% (n=1) sindrome HELLP;
- l'1.3% (n=1) diabete gestazionale;

l'1.3% (n=1) colestasi gravidica;

l'1.3% (n=1) ha riscontrato una malformazione fetale;

il 6.5% (n=5) ha avuto minaccia di parto pretermine;

il 2.6% (n=2) ha subito un parto pretermine.



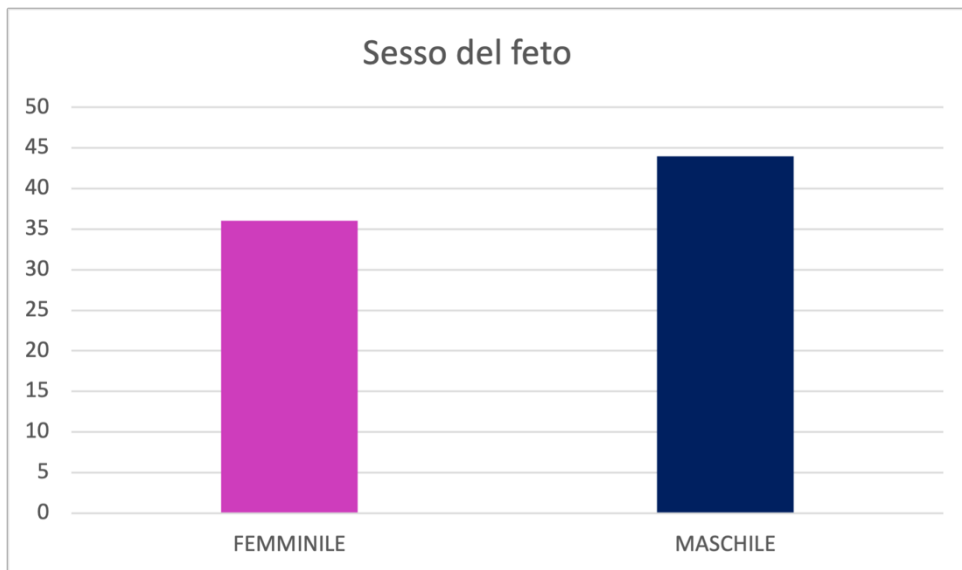
Per la tipologia del parto effettuato si è riscontrato una percentuale di maggioranza nel parto eutocico con una percentuale del 53.2% (n=41);

per quanto riguarda il parto operativo tramite ventosa o forcipe, solo il 2.6%(n=2);

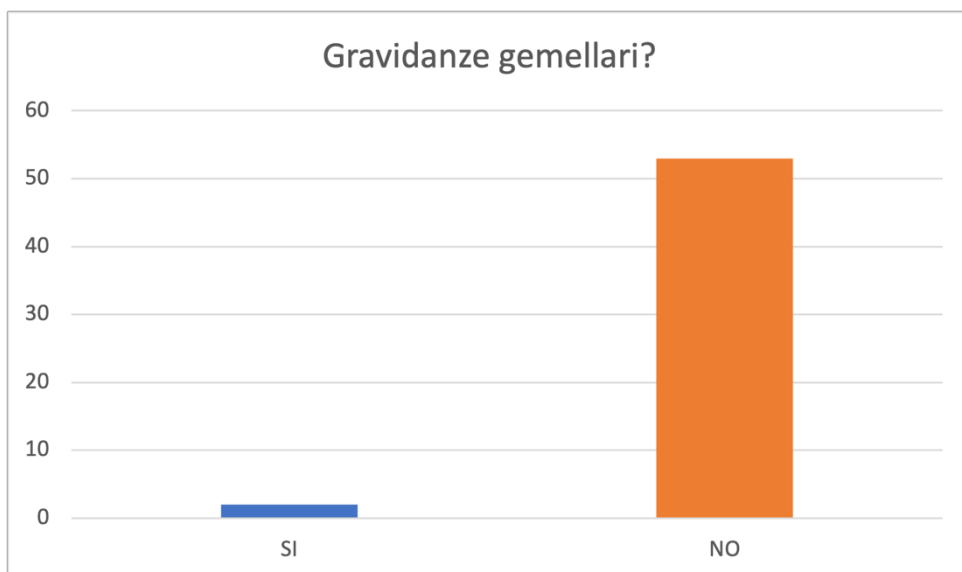
mentre per il taglio cesareo, sia elettivo che urgente, il 44.2%(n=34)



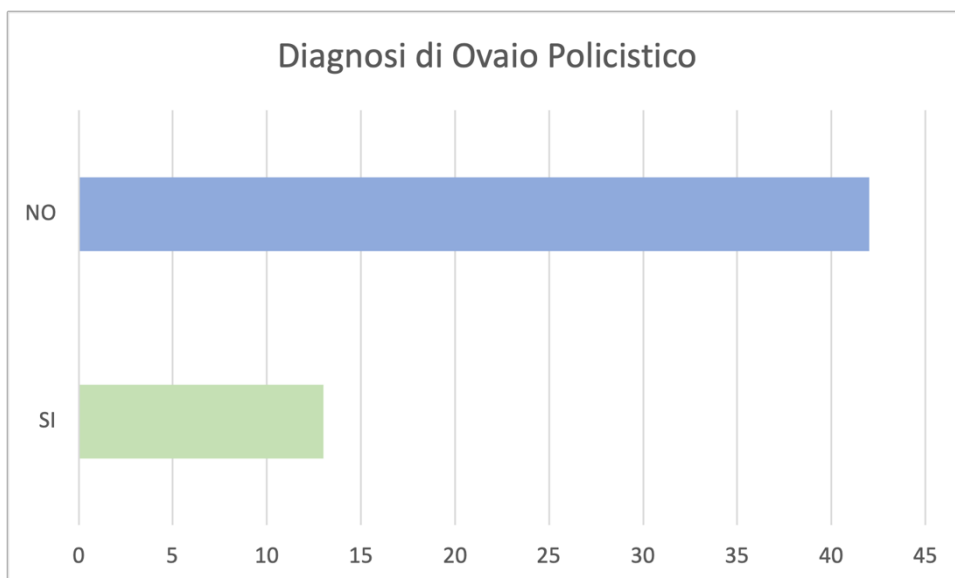
Un altro dato osservato è il sesso dei feti, con un riscontro del 45.6% (n=36) di neonati con sesso femminile e 54.4% (n=43) di sesso maschile.



Solo lo 3.6% (n=2) delle donne ha avuto gravidanze gemellari, rispetto al 96.4%(n=53) delle gravidanze singole.



Il 76.4% (n=42) delle donne non ha mai ricevuto diagnosi di ovaio policistico, mentre il 23.6% (n=13) ha risposto affermativamente.



Anamnesi materna e familiare

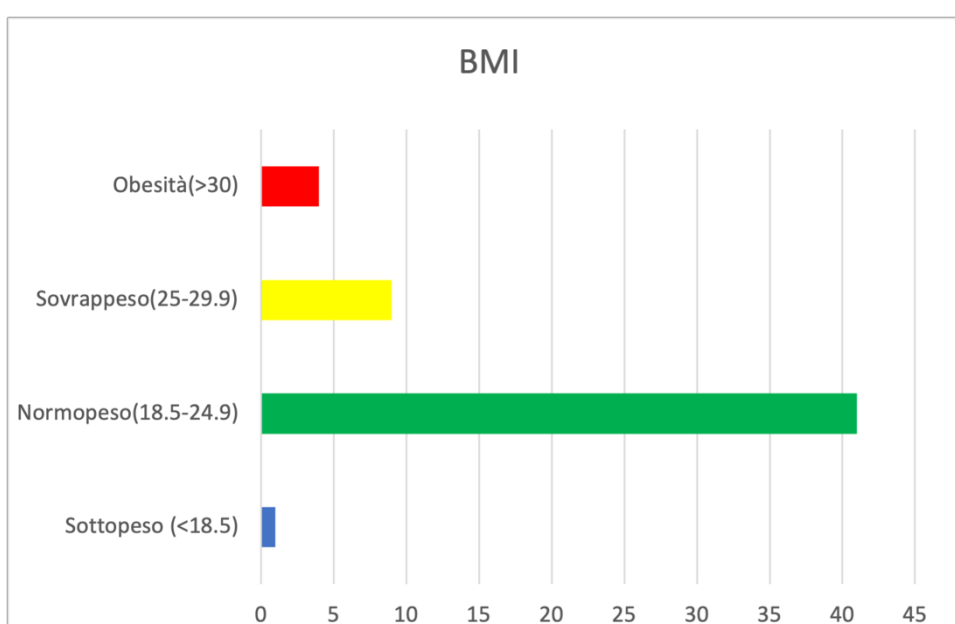
Tramite il peso e l'altezza si è ricavato il BMI delle donne suddividendolo nelle 4 categorie: sottopeso (<18.5), normopeso (18.5-24.9), sovrappeso (25-29.9), obesità (>30).

Il 74.1% (n=40) rientra nella categoria normopeso;

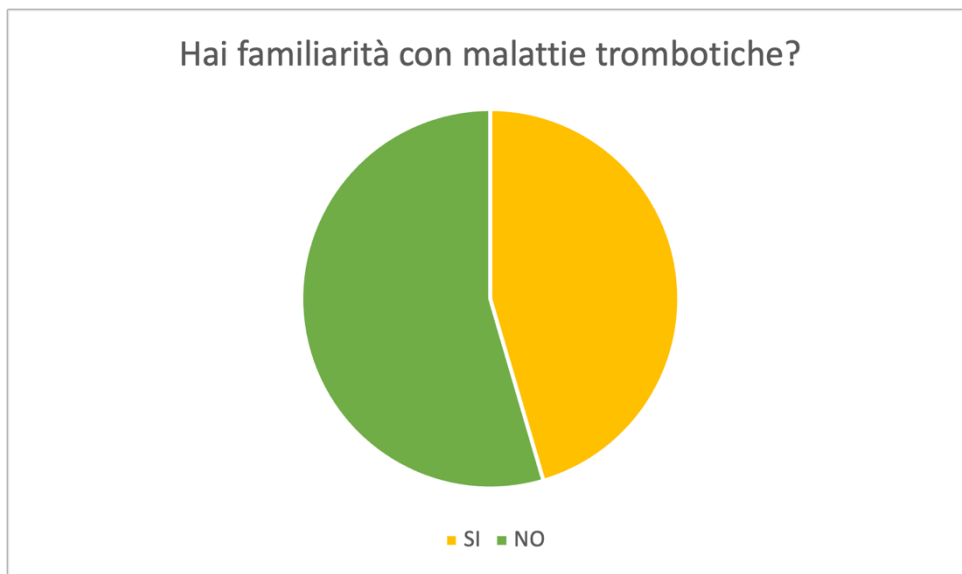
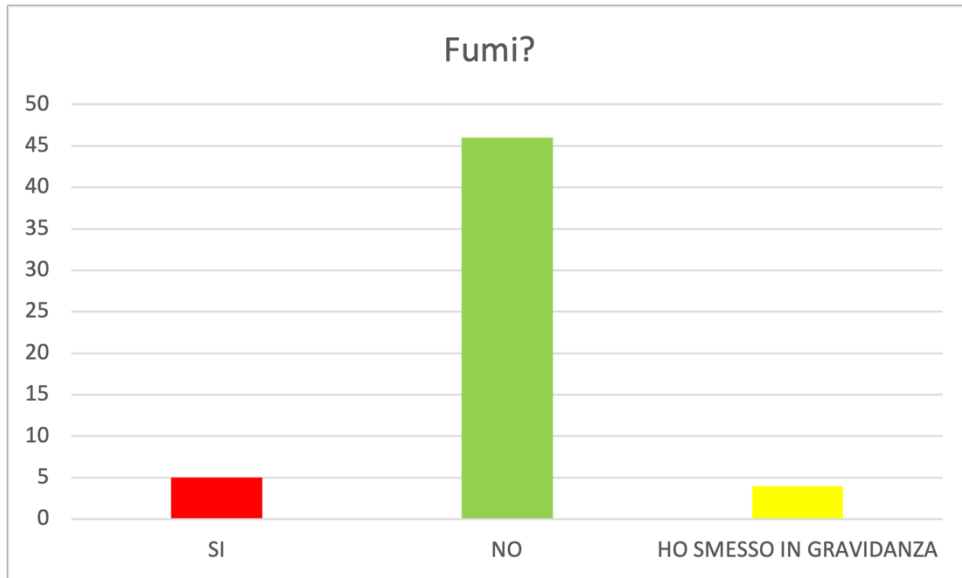
l'1.9% (n=1) sottopeso;

il 16.7% (n=9) sovrappeso;

il 7.4% (n=4) nella categoria dell'obesità.



L'abitudine al tabagismo è legata al 9.1% (n=5) della popolazione mentre il 7.3%(n=4) ha interrotto l'utilizzo del tabacco al riscontro della gravidanza, lasciando l'83.6%(n=46) di donne che non assumono tabacco.



Il 45%(n=25) conferma familiarità con malattie trombotiche, il 55%(n=30) lo nega.

Per l'anamnesi della donna andando nello specifico sulle malattie a livello circolatorio è emerso che il 61.8%(n=34) non è a conoscenza di eventuali problemi circolatori; il 9.1%(n=5) riscontra problemi a livello del microcircolo venoso come arti freddi, capillari visibili e vene varicose;

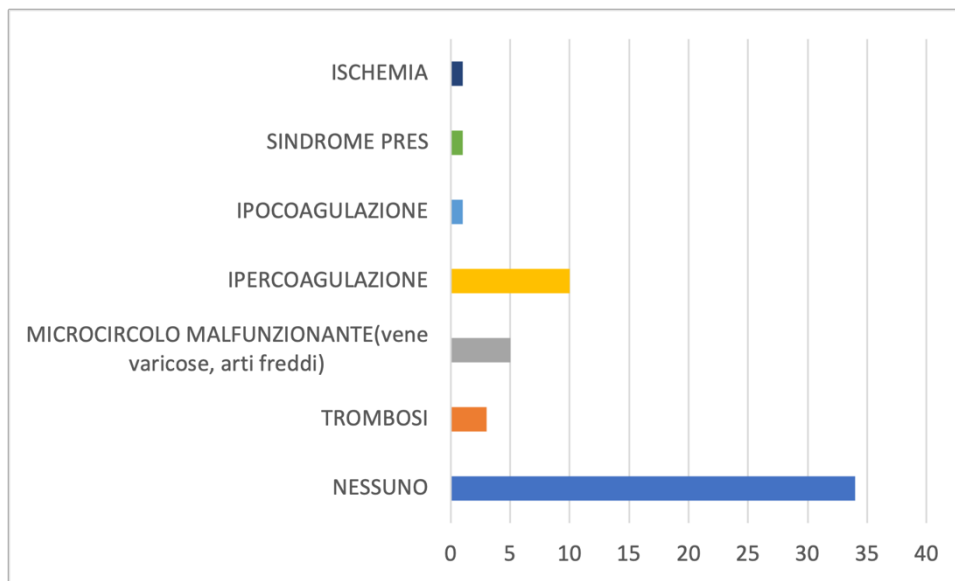
il 18.2%(n=10) soffre di problematiche di ipercoagulazione, aumentando il rischio di trombosi venosa, per mutazioni come fattore V di Leiden, mutazione 20210 della protrombina (fattore II), mutazione ACE, e mutazione Pai-1;

l'1.8%(n=1) riscontra problematiche di ipocoagulazione e un rischio maggiore di emorragia per fattori come la mutazione del fattore XIII;

il 5.5%(n=3) esprime di aver avuto almeno una trombosi;

l'1.8%(n=1) soffre di sindrome PRES (encefalopatia posteriore reversibile) e sempre

l'1.8%(n=1) ammette di aver subito una ischemia.



Come già accennato, è stato chiesto di identificare altre mutazioni genetiche oltre alla MTHFR con riscontro:

il 7.3% (n=4) ha la mutazione del fattore V di Leiden;

il 3.6%(n=2) ACE (Angiotensin I-Converting Enzyme);

il 3.6% (n=2) mutazione Pai-1 (inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno);

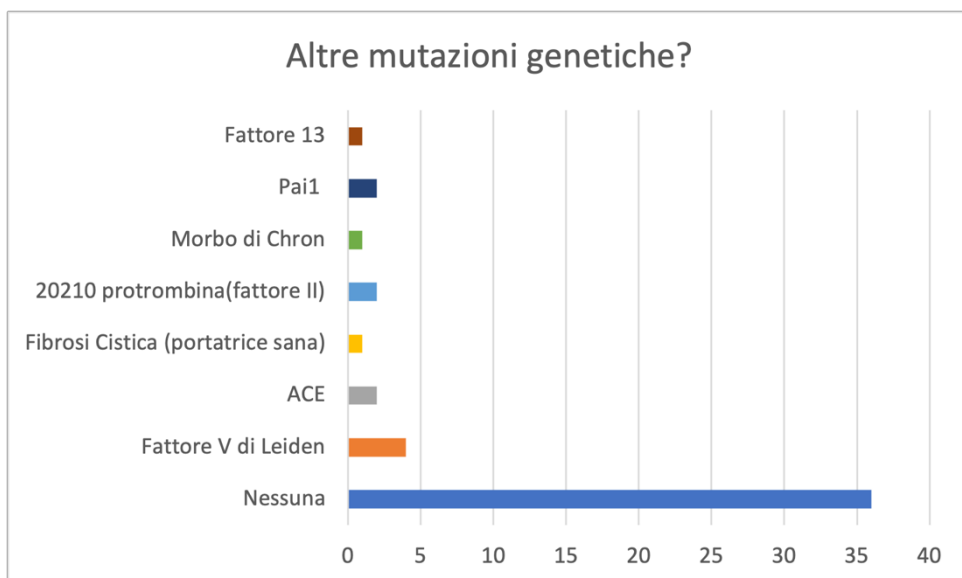
il 3.6% (n=2) mutazione 20210 del gene della protrombina (fattore II);

l'1.8% (n=1) mutazione del fattore XII;

l'1.8% (n=1) soffre del morbo di Crohn;

l'1.8% (n=1) è una portatrice sana della Fibrosi Cistica.

Il restante 65.5% (n=36) nega la conoscenza di altre mutazioni genetiche.



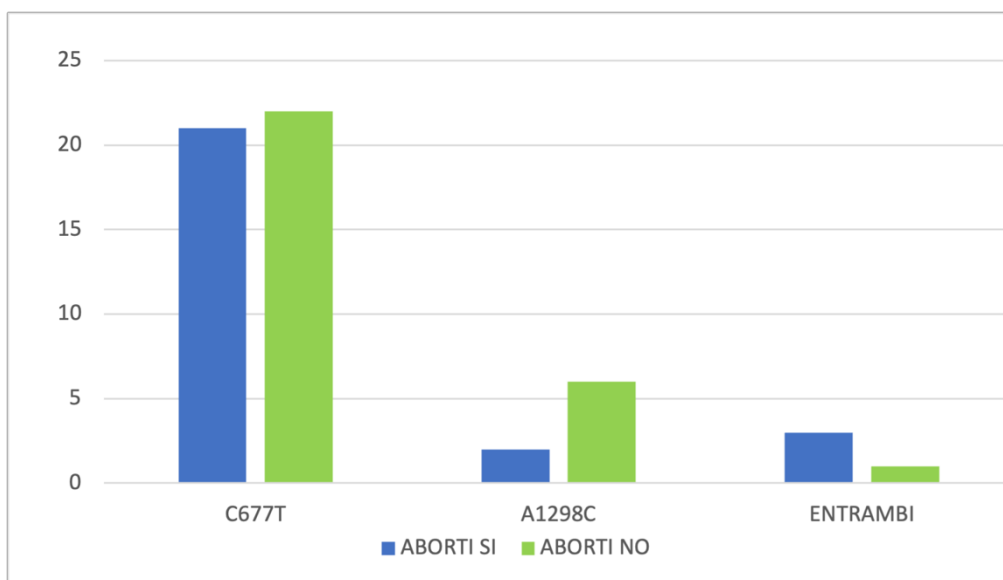
Aborti spontanei

Come visto nella sezione dell'anamnesi ostetrica e ginecologica precedentemente citato, l'aborto spontaneo è stato vissuto nel 47.3% (n=26) dalle donne dell'indagine; si è riscontrato che:

nell'80.8% (n=21) dei casi la donna aveva la mutazione C677T;

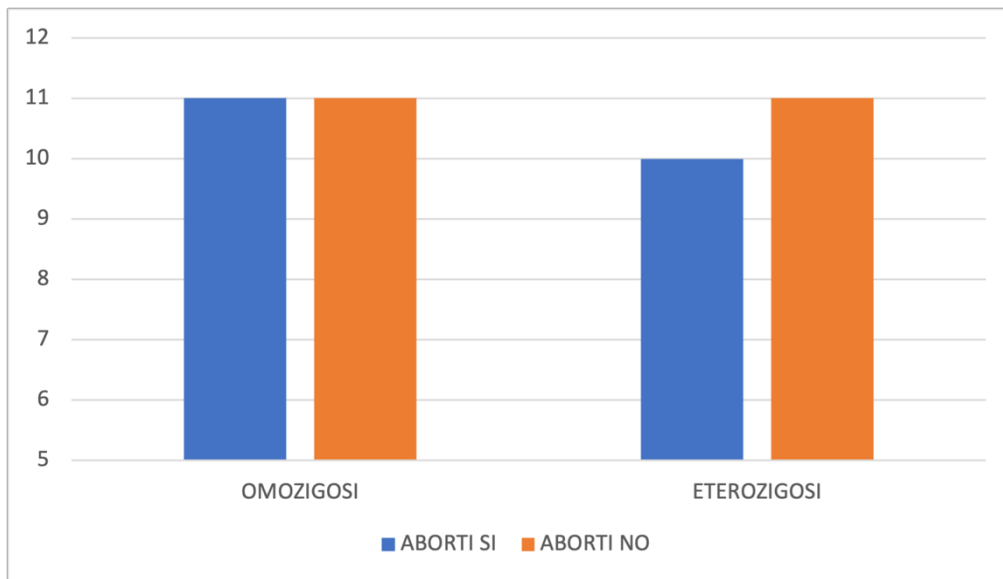
nel 7.7% (n=2) la mutazione A1298C;

nel 11.5% (n=3) entrambe le mutazioni.



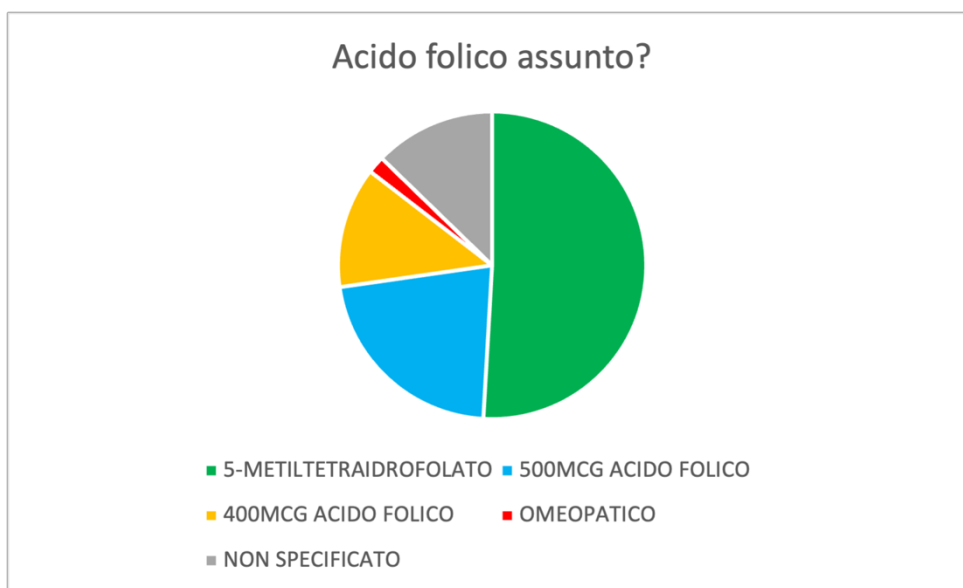
Inoltre, nello specifico osservando solo la mutazione C677T dividendo per omozigosi ed eterozigosi si è notato:

nel 52.4%(n=11) la mutazione C677T è omozigosi;
mentre nel 47.6% (n=10) la mutazione è in eterozigosi.



Dai risultati ottenuti si può evincere che non esiste una correlazione statisticamente significativa tra le mutazioni e l'aborto spontaneo (p-value=0.2912); per quanto riguarda il fenotipo della mutazione C677T tra omozigosi ed eterozigosi correlate all'aborto spontaneo, non esiste una correlazione statisticamente significativa tra le due (p-value=0.7635) (OR 0.76).

Acido folico assunto



Nell'analisi delle risposte ottenute sono stati identificati i principi attivi degli integratori assunti durante le gravidanze e sono stati divisi in 5-metiltetraidrofolato, quindi acido folico attivo, 500 mcg di acido folico, 400mcg di acido folico e una supplementazione omeopatica.

Il 50.9%(n=28) assumeva 5-metiltetraidrofolato;

il 21.8% (n=12) assumeva 500mcg di acido folico negli integratori;

il 12.7% (n=7) assumeva 400mcg di acido folico negli integratori;

l'1.8%(n=1) assumeva una supplementazione omeopatica;

infine, il 12.7% (n=5) non ricordava o non specificava la tipologia di integratore assunta.

Non è statisticamente significativo l'acido folico correlato all'aborto spontaneo (p-value=0.5666).

5. DISCUSSIONE

La mutazione MTHFR è una modificazione dell'enzima metilene tetraidrofolato reduttasi, situato nel cromosoma 1 in posizione 36.6, che svolge la funzione della formazione della metionina scartando omocisteina per poi metilarla ulteriormente in metionina.

Una modifica di questo gene comporta un rallentamento nella sintesi dell'amminoacido e portando ad una maggiore liberazione dell'omocisteina nell'organismo.

Se elevata, l'omocisteina, comporta un aumento di coagulazione sanguigna per la sua natura tromboplastica, causando un rischio maggiore di trombosi e malattie ateroscleriche.

Studi retrospettivi realizzati negli anni '80 hanno evidenziato un aumento dei livelli di omocisteina e una correlazione con il polimorfismo MTHFR C677T in pazienti che avevano subito un infarto miocardico, un ictus o soffrivano di malattia coronarica, oltre a presentare una storia di tromboembolismo venoso (TEV), che comprende trombosi venosa profonda che embolia polmonare. Tuttavia, ricerche prospettiche condotte nel decennio successivo hanno dimostrato che queste associazioni erano deboli o addirittura assenti, come evidenziato dai risultati di uno studio multicentrico pubblicato nel 2002 da R. Clarke ed altri [14]. Già nel 2010, l'American College of Cardiology e l'American Heart Association hanno dichiarato chiaramente la loro opposizione alla misurazione dell'omocisteina per la valutazione del rischio cardiovascolare, riconoscendo l'iperomocisteinemia come un fattore di rischio insignificante per la salute pubblica.

Per quanto riguarda la gravidanza, alcuni studi riferiscono la mutazione MTHFR e l'elevata omocisteina come dei rischi per pre-eclampsia, disordini placentari, aborti spontanei e malformazioni fetali.

È stata identificata un'associazione significativa tra la mutazione MTHFR C677T e gli aborti spontanei ricorrenti nella popolazione dell'Asia orientale (Cao et al., 2013) [15]. Tuttavia, molti studi sono discordanti sull'argomento, infatti un'indagine più recente condotta su un campione della popolazione iraniana ha evidenziato l'assenza di associazione tra il polimorfismo MTHFR C677T e gli aborti spontanei (Yousefian et al., 2014) [16].

Basandoci su ciò, nello studio condotto si è riscontrato che il 47.3% di donne ha riscontrato almeno un aborto spontaneo nella sua vita con un numero massimo di 3 perdite, approfondendo si è andato ad analizzare le tre mutazioni riscontrate: con un

80.8% riscontrato nella mutazione C677T (n=21), nonostante ciò, non è statisticamente significativa la mutazione correlata all'evento dell'aborto spontaneo (p-value=0.2912).

Nello specifico si è cercata una correlazione tra perdita e quale fenotipo della mutazione C677T avesse avuto più riscontro, ne è evinto che la percentuale di aborti spontanei avvenuti in donne con mutazione in omozigosi C677T è del 52.4% mentre in eterozigosi del 47.6%, perciò non è statisticamente significante (p-value=0.7635).

Un altro argomento analizzato in questo studio è stata la tipologia dei folati utilizzati da queste donne.

L'acido folico ed i folati sono degli amminoacidi essenziali che possiamo introdurre nel nostro corpo solo tramite l'alimentazione e la supplementazione integrativa artificiale, tantissimi studi hanno dimostrato l'efficacia nella prevenzione dei difetti del tubo neurale fetale; infatti, le linee guida nazionali SIGO, e non solo, raccomandano l'assunzione di 400mcg di acido folico da almeno 3 mesi prima del concepimento fino ad almeno 3 mesi di gestazione.

Per poter diventare metabolicamente attivo, l'acido folico deve passare attraverso il fegato per convertirsi in 5-metiltetraidrofolato, ossia la componente attiva ed efficiente dell'acido folico.

La trasformazione e conversione avvenuta nel fegato però potrebbe portare a patologie epatiche come anemia megaloblastica, oppure per chi ha una mutazione genetica che comporta una modifica nella conversione, la maggiore assunzione di acido folico standardizzato non porta beneficio: l'assunzione del 5-metiltetraidrofolato è più indicata in questi casi, perché è subito biodisponibile per chi lo assume ed eventualmente per la gravidanza.

Come cita l'AOGOI, "L'integrazione con 5-MTHF in gravidanza potrebbe essere vantaggiosa rispetto a quella con acido folico, perché il 5-MTHF è immediatamente attivo, non richiede attivazione metabolica, è direttamente biodisponibile per la madre e il feto e non è influenzato dalle possibili mutazioni del gene MTHFR".

Uno studio svolto da Edouard J. Servy ed al. nel 2018[12], riscontra che il trattamento con 5-MTHF (5-metiltetraidrofolato) ha dimostrato di migliorare le probabilità di supportare una gravidanza fino a termine nelle donne con aborti ripetuti che portano le varianti MTHFR C677T e A1298C.

Nello studio svolto, è stata fatta una indagine sulla tipologia del principio attivo riscontrato in vari integratori assunti da queste donne:

il 50.9% assumeva il 5-metiltetraidrofolato, il 21.8% 500mcg di acido folico, il 12.7% la dose di 400mcg, l'1.8 assumeva una integrazione omeopatica non specificata, ed il restante 12.7% purtroppo non ha specificato il supplemento.

Osservando la percentuale interessata nello studio, ossia il 5-metiltetraidrofolato, nonostante sia leggermente sopra la metà percentuale del campione, comporta la necessità di una migliore comunicazione ed una maggiore conoscenza dei benefici di questa supplementazione alternativa al classico acido folico.

Per quanto riguarda una correlazione tra la tipologia di acido folico e l'accaduto o meno di aborto spontaneo, in questo studio non è stato statisticamente rilevante ($p\text{-value}=0.5666$)

Il basso numero del campione riscontrato in questo studio è sicuramente limitante per una analisi adeguata di una correlazione tra tipologia e fenotipo di una mutazione con aborto spontaneo ricorrente, e per l'accaduto di aborto spontaneo in correlazione della tipologia di acido folico assunto.

Sarebbero utili ulteriori studi ed approfondimenti dell'argomento.

6. CONCLUSIONI

In un'epoca dove l'aver una famiglia non è più così sottovalutato, dove l'assenza di una persona da amare o la perdita di essa porta dubbio e sconforto: la tecnologia e la mente umana riesce a portare luce, e chiarezza.

Con le conoscenze attuali la mutazione del gene MTHFR, in tutte le sue varianti, non costituisce un aumentato rischio per la gravidanza e non richiede terapie anticoagulanti. Sicuramente l'evoluzione della procreazione medicalmente assistita e la ricerca di come prevenire l'utilizzo di tecnologie artificiali, porta benessere e speranza alle donne e coppie nella pianificazione di una famiglia.

L'utilizzo dell'acido folico più adatto alla propria condizione è sicuramente un passo fondamentale per non dover ricorrere a tecniche più raffinate;

l'aggiornamento degli operatori sanitari del campo è fondamentale per poter garantire uno scambio di informazioni coi pazienti efficiente, come dallo studio svolto solamente poco più della metà assumeva un supplemento adatto alla propria condizione clinica.

Sicuramente sono necessari maggiori approfondimenti e studi sull'argomento trattato, perché l'età materna è aumentata, lo stile di vita attuale non sempre può permettere una famiglia composta da più figli; di conseguenza la genitorialità è una scelta ben consapevole ai giorni d'oggi e con lo standard di cure attuale la società pretende, dove si può, la miglior performance medica e sanitaria.

In conclusione, gli operatori sanitari devono aiutare a condurre il paziente nella terapia più adeguata e supportarli.

«E gli uomini vollero piuttosto le tenebre che la luce».

(Giovanni, III, 19)

7. SITOGRAFIA

[1] Molecular Biology of Methylene tetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms.

Daniel Leclerc, Sahar Sibani, and Rima Rozen 2000-2013

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6561/>

[2] Guidelines for MTHFR polymorphism testing.

College Genetics Belgium 2019

https://www.college-genetics.be/assets/recommendations/fr/guidelines/MTHFR%20polymorphism%20testing_ENG_guidelines_2019.pdf

[3] Homocysteine and MTHFR Mutations.

Stephan Moll, Elizabeth A. Varga -2015

https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013311?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

[4] Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance.

Jihyun Kim, Hyunhee Kim, Heewon Roh , Youngjoo Kwon 2018

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12272-018-1016-4>

[5] Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism.

Per Magne Ueland, Steinar Hustad, Jørn Schneede, Helga Refsum, Stein Emil Vollset – 2001

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165614700016758#BIB8>

[6] Methylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphism and Pregnancy Outcome

Mert Turgal, Fatma Gumruk, Ergun Karaagaoglu, Mehmet Sinan Beksac - 2018

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6138472/>

[7] A Novel Review of Homocysteine and Pregnancy Complications

Chuce Dai, Yiming Fei, Jianming Li, Yang Shi, Xiuhua Yang - 2021

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8121575/>

[8] Recurrent Miscarriage Green-Top Guideline No.17.

Lesley Regano, Rajendra Rai, Sotirios saravelos, Tin-Chiu Li (RCOG)2023

<https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0528.17515>

[9] La guida completa alle vitamine B.

Jackie Newson

<https://www.abundanceandhealth.co.uk/upload/ultimate-guides/IT-Ultimate-guide-vitb.pdf>

[10] Vitamin B12 Deficiency.

Alex Ankar, Anila Kumar 2022

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441923/>

[11] Alimentazione in Gravidanza ed Allattamento.

Linee Guida SIGO 2018

https://www.sigo.it/wp-content/uploads/2018/06/LG_NutrizioneinGravidanza.pdf

[12] MTHFR isoform carriers. 5-MTHF (5-methyl tetrahydrofolate) vs folic acid: a key to pregnancy outcome: a case series.

Edouard J. Servy, Laetitia Jacquesson-Fournols, Marc Cohen, and Yves J. R. Menezo
2018

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6086798/>

[13] Folati e Acido Folico: non sono la stessa cosa, facciamo chiarezza.

AOGOI – Associazione Ostetrici Ginecologici Ospedalieri Italiani

<https://www.aogoi.it/iniziative/speciale-folati/folati-e-acido-folico/>

[14] Homocysteine and Risk of Ischemic Heart Disease and Stroke: A Meta-analysis.

R. Clarke ed altri 2002

<https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/195433>

[15] Association study between methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis.

Y. Cao, J. Xu, Z. Zhang, X. Huang, A. Zhang, J. Wang, et al. 2013

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111912013960>

[16] Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism in Iranian women with idiopathic recurrent pregnancy losses.

E. Yousefian, M.T. Kardi, A. Allahveisi 2014

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4166091/>

8. RINGRAZIAMENTI

Ringrazio il relatore, Professore Giannubilo per il supporto ed i preziosi consigli per l'idea e la stesura di questa tesi.

Ringrazio i dottori Olivi, Stortoni e Marmorato per il sostegno dello studio.

Ringrazio la mia famiglia, a loro che non hanno mai smesso di credere in me e che hanno sempre investito nella mia educazione, nel mio sogno e nel mio futuro soprattutto ad ogni momento di ripensamento o timore.

Specialmente a Denisa e Corina, due sorelle sia di spirito che di sangue; due donne a cui ho sempre aspirato, spero di rendervi fiere.

Ai due nuovi cuccioli Emma e Giulio, senza di voi la casa sarebbe un po' più vuota e silenziosa.

Ringrazio tutti i miei amici per avermi fatto alleggerire questi anni intensi.

Ringrazio Anna, mia amica e persona. Ci auguro una carriera piena di soddisfazioni e conoscenze, ma soprattutto ancora tanti viaggi, risate e pazzie insieme.

Ringrazio le mie compagne di corso che hanno reso questo percorso piacevole e pieno di impegno e passione, ci auguro una bellissima carriera ricca di conoscenza e stregoneria.

Ringrazio la ragazza testona e permalosa ma anche curiosa ed ambiziosa.

Ce l'hai fatta e ce la farai sempre, non aver mai paura.