



UNIVERSITÀ DI PISA

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica

Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

Tesi di Laurea

OUTCOME NEONATALE IN GEMELLI DI PESO DISCORDANTE: È PIÙ
IMPORTANTE L'ETÀ GESTAZIONALE, LA CORIONICITÀ O L'ENTITÀ
DELLA DISCORDANZA DI PESO?

Relatore

Chiar.mo Prof. ANTONIO BOLDRINI

Correlatore

Dott. PAOLO GHIRRI

Candidata

Giulia Russo

Anno accademico 2014/2015

INDICE

RIASSUNTO ANALITICO	3
INTRODUZIONE.....	6
Epidemiologia ed eziologia delle gravidanze multiple	6
Classificazione delle gravidanze multiple: gemelli monozigoti e dizigoti.....	9
Diagnosi non invasiva di corionicità, amnionicità e zigosità nelle gravidanze gemellari.....	13
Vanishing twin e morte intrauterina di un gemello	18
Complicanze ostetriche e outcome neonatale	20
Parto pretermine e gravidanza multipla	22
Rischi specifici dei gemelli monocoriali	24
<i>Twin-Twin Transfusion Syndrome (TTTS)</i>	24
<i>TRAP (Twin Reverse Arterial Perfusion Sequence)</i>	27
<i>Annodamento e compressione dei funicoli</i>	30
IUGR (Intra Uterin Growth Retardation).....	31
EUGR (Extra Uterin Growth Restriction).....	37
Crescita fetale discordante nelle gravidanze gemellari	39
Outcome neurologico nei gemelli	42
Anomalie e disabilità non neurologiche associate alla condizione di gemellarità.....	45
OBIETTIVI, PAZIENTI E METODI.....	46
RISULTATI E CONSIDERAZIONI	53
Discordanza di peso alla nascita.....	53
Entità della discordanza di peso alla nascita per ogni singola coppia di gemelli ($\geq 20\%$ vs $< 20\%$).....	55
Corionicità.....	58
Corionicità, età gestazionale e peso alla nascita.....	60
Ruolo dell'asse GH-IGF1-IGFBP	62
Ruolo dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e livelli di cortisolemia.....	64
CONCLUSIONI	67
BIBLIOGRAFIA	69
RINGRAZIAMENTI	74

RIASSUNTO ANALITICO

Negli ultimi anni si è registrato un consistente aumento dell'incidenza di gravidanze gemellari o plurigemellari; tale aumento, determinato in parte anche da un innalzamento dell'età media delle gestanti, è soprattutto dovuto al sempre più frequente impiego di terapie farmacologiche per l'induzione dell'ovulazione e alla diffusione delle tecniche di fecondazione assistita.

La condizione di gemellarità, soprattutto in caso di placentazione monocoriale, comporta un aumentato rischio di complicanze sia a carico della salute della gestante che del feto ed è ormai noto come frequenza e gravità di tali complicanze siano proporzionali al numero dei feti.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare in che modo l'entità della discordanza di peso alla nascita (definita come una differenza di almeno il 15% tra i pesi dei due gemelli), la corionicità e la prematurità siano correlate ad un aumentato rischio di morbidità e mortalità perinatale, identificando i cosiddetti determinanti precoci di outcome neonatale e valutando quali, tra questi, giochi un ruolo significativo nel condizionare la prognosi.

Nel nostro studio di tipo retrospettivo sono state incluse tutte quelle gravidanze bigemellari che, dal gennaio 2012 al dicembre 2014, sono state portate a termine presso il Dipartimento Materno-Infantile di Pisa, e che abbiano portato alla nascita di due neonati con discordanza di peso alla nascita $\geq 15\%$. La coorte di pazienti presa in esame è costituita da 55 coppie di gemelli (39 coppie pretermine e 16 a termine), su un totale di 191 gravidanze bigemellari nei tre anni di riferimento.

Il massimo valore percentuale di discordanza riscontrato è del 47%, con una media delle percentuali di discordanza del 22%, senza significative differenze tra gemelli monocoriali e bicoriali.

Abbiamo valutato in che modo la prematurità, la corionicità, il peso alla nascita e il tasso di discordanza possano influenzare l'outcome del paziente in termini di morbidità neonatale.

I parametri di outcome presi in considerazione sono stati:

1. La restrizione di crescita extrauterina (EUGR), valutando, mediante l'uso delle carte antropometriche di Bertino, tre parametri auxologici, peso, lunghezza e circonferenza cranica, alla nascita e al momento della dimissione del neonato dal reparto di degenza (in genere con un'età corretta uguale o di poco inferiore al termine). L'incidenza di EUGR severo per il peso ($\leq 3^{\circ}$ centile) si è rivelata significativamente più alta

- ($p=0,00001$) nel neonato di peso minore di ciascuna coppia (56% dei casi) rispetto al neonato di peso maggiore (5%).
2. Incidenza di basso peso alla nascita e prevalenza di neonati SGA: non si sono osservate differenze significative tra il gruppo di gemelli di peso maggiore (93%) e quello di peso minore (91%) per quanto riguarda l'incidenza di neonati SGA tra 3°-10° centile. Al contrario il numero di neonati SGA $\leq 3^\circ$ risulta maggiore, pur non raggiungendo la significatività statistica ($p = 0,08$), tra i neonati di peso minore (5,4%) rispetto a quelli di peso maggiore (0%).
 3. Distress respiratorio (RDS), definito come condizione di insufficienza respiratoria tale da necessitare di supporto ventilatorio (nCPAP) o somministrazione di ossigeno nelle prime 24 ore di vita.
 4. Sepsi neonatale, diagnosticata in neonati con esami colturali positivi e segni clinici di infezione in atto; nel nostro campione, nessuno dei neonati tra quelli di peso maggiore ha presentato segni di sepsi e solo un neonato tra quelli di peso minore ha presentato evidenza di sepsi neonatale.
 5. Pervietà del dotto di Botallo (PDA) emodinamicamente significativa (5% dei gemelli di peso maggiore vs il 9% di quelli di peso minore, $p= 0,4$).
 6. Ittero neonatale, di gravità tale da richiedere fototerapia (11% dei gemelli di peso maggiore vs 16% dei gemelli di peso minore, $p = 0,4$).
 7. Ipocalcemia, ossia Ca ionizzato $< 1,1$ mmol/L e quindi tale da richiedere somministrazione di calcio gluconato 10% (25% dei gemelli di peso maggiore vs 20% di quelli di peso minore).
 8. Anemia, con valori di emoglobina talmente bassi da richiedere trasfusioni di emazie concentrate leucodeplete o più cicli di EPO; l'anemia si è manifestata più frequentemente tra gemelli di peso maggiore (13% dei casi), rispetto che nei gemelli di peso minore (7% dei casi).
 9. Retinopatia del pretermine (ROP); nel nostro studio soltanto un paziente, appartenente al gruppo dei gemelli di peso maggiore, ha presentato ROP.
 10. Livelli ematici di cortisolemia, di IGF-1 e di 25OH vitamina D.
 11. Alterazioni degli ormoni tiroidei (ipotiroxinemia, $T4 < 1$ ng/dl) e TSH elevato ($\geq 5\mu\text{U/ml}$).
 12. Ipogammaglobulinemia.
 13. Malformazioni, soprattutto genitourinarie e cardiache.

14. Lesioni del SNC, diagnosticate mediante ecografie transfontanelari seriate che vengono eseguite in tutti i nati pretermine.

15. Durata degenza.

Nel nostro campione non si sono riscontrate differenze in termini di incidenza di RDS in relazione all'appartenenza al gruppo dei gemelli di peso maggiore o dei gemelli di peso minore (33% vs 29%, $p = 0,7$).

Neanche la monocorionicità, al contrario di quanto normalmente riportato in letteratura, ha costituito un fattore di rischio indipendente e significativo per lo sviluppo di RDS, associandosi tuttavia ad un più elevato grado di discordanza di peso alla nascita; quest'ultima, quando maggiore del 20%, è correlata invece ad un'aumentata incidenza nello sviluppo di distress respiratorio e di ittero neonatale, avendo pertanto un ruolo importante nella determinazione dell'outcome neonatale di questi pazienti.

I gemelli monocoriali hanno presentato una maggiore incidenza di basso peso alla nascita (la media dei pesi alla nascita nei gemelli monocoriali è infatti di 1952 g, al contrario nei bicoriali essa è pari a 2237 g), di ritardo di crescita extrauterino e di ipocalcemia severa, oltre che una maggiore durata media della degenza rispetto ai gemelli bicoriali.

La bassa età gestazionale costituisce un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di RDS, ittero neonatale, anemia, EUGR e basso peso/lunghezza alla nascita e sembra rappresentare, almeno per quanto riguarda la nostra casistica, il determinante maggiormente incidente sulle complicanze neonatali nelle gravidanze gravate da discordanza di peso.

INTRODUZIONE

EPIDEMIOLOGIA ED EZIOLOGIA DELLE GRAVIDANZE MULTIPLE

Le gravidanze multiple sono il risultato di una complessa interazione tra fattori genetici e ambientali ed esse rappresentano ad oggi l'1-2% di tutte le gravidanze. ²

Nella specie umana la gravidanza gemellare spontanea è un evento piuttosto raro: si ritiene che la frequenza di gravidanza bigemina sia di 1/80 e che tale frequenza si riduca in maniera esponenziale con l'aumentare del numero dei feti secondo la regola di Hellin (1865). I parti trigemini avranno una frequenza pari al quadrato dei parti bigemini ($1/80^2$ quindi 1/6.400), quelli quadrigemini una frequenza pari al cubo dei bigemini ($1/80^3$ quindi 1/512.000).

Negli ultimi anni si è registrato un consistente aumento dell'incidenza di gravidanze gemellari o plurigemellari, sia per l'innalzamento dell'età media delle gestanti (all'aumentare dell'età materna la sensibilità ovarica alle gonadotropine diminuisce, stimolando l'ipofisi a produrre una maggiore quantità di FSH e LH e portando così ad un aumento del numero dei follicoli giunti a maturazione e in grado pertanto di essere fecondati), sia per il sempre più frequente ricorso a terapie farmacologiche con Clomifene Citrato e Gonadotropine per stimolare l'ovulazione e a tecniche di fecondazione assistita. Il ruolo di questi fattori può tuttavia essere differente in base alla tipologia di gravidanza (monozigotica o dizigotica) e alla popolazione presa in esame. ³

Al contrario di quanto comunemente ritenuto dall'opinione pubblica, la maggior parte delle gravidanze gemellari iatrogene è conseguente al semplice trattamento per l'induzione dell'ovulazione e non all'impiego di tecniche di riproduzione assistita. Attraverso la limitazione del numero di embrioni o di ovociti che vengono trasferiti, sia la fecondazione *in vitro* seguita da FIVET (rischio di gravidanza multipla del 3,5%) che il GIFT, ossia il trasferimento dei gameti entro le tube di Falloppio (rischio del 5%) consentono un discreto controllo dei fattori di rischio di gravidanza multipla, dando quindi per lo più origine a gravidanze gemellari di basso ordine (bigemine o trigemine).

Nel caso invece delle pazienti anovulatorie trattate con Clomifene o con Gonadotropine nel tentativo di ottenere una mono-ovulazione o nel caso delle coppie con sterilità inspiegata in cui si fa precedere l'inseminazione intrauterina o il rapporto mirato dall'induzione dello

sviluppo di 2-4 follicoli (la cosiddetta induzione della “superovulazione”), il rischio di gravidanza plurima risulta, almeno teoricamente, incontrollabile.⁴

Le gravidanze dizigoti rappresentano il 70% di tutte le gravidanze gemellari e sono il risultato della fecondazione di due diverse cellule uovo fecondate da due spermatozoi diversi.

Il tasso di gemelli dizigoti aumenta all'aumentare dell'età materna e in caso di familiarità (sulla linea materna, mentre la linea paterna non modifica il rischio di gemellarità).

Le gravidanze monozigoti rappresentano invece il 30% di tutte le gravidanze gemellari ed esse si verificano ogni qualvolta una cellula uovo viene fecondata da parte di un solo spermatozoo, portando così alla formazione di uno zigote che successivamente si divide, dando luogo a situazioni differenti in base al diverso momento in cui avviene la divisione.

Le gravidanze gemellari presentano un aumentato rischio di complicanze sia a carico della salute della gestante che del feto ed è ormai noto come frequenza e gravità di tali complicanze siano proporzionali al numero dei feti. Non si registrano al contrario differenze nell'*outcome* materno-fetale tra gravidanze multiple insorte dopo tecniche di riproduzione assistita e gravidanze multiple insorte spontaneamente.

Paragonando gruppi omogenei di pazienti con gravidanze gemellari insorte spontaneamente o dopo riproduzione assistita, non si segnalano differenze significative tra i due gruppi nell'epoca gestazionale al momento del parto e nell'incidenza di parti pretermine così come anche l'*outcome* neonatale in termini di giorni di terapia intensiva neonatale, sindrome da distress respiratorio, tachipnea transitoria del neonato e sviluppo di iperbilirubinemia, appare sovrapponibile nei due gruppi. L'unica differenza significativa riportata riguarda la presenza di una più alta incidenza di gemelli di peso discordante (>15%) tra le pazienti sottoposte a tecniche di riproduzione assistita.⁴

Le complicazioni materne in corso di gravidanza gemellare possono essere molteplici e di variabile gravità; nel primo trimestre di gravidanza si registra un'aumentata prevalenza della nausea e del vomito a causa dei livelli elevati di gonadotropina corionica ed un'aumentata tendenza all'aborto spontaneo rispetto alla gravidanza singola.

Le gestanti gemellari primigravide presentano un rischio cinque volte maggiore di sviluppare preeclampsia, mentre le gestanti multigravide hanno un rischio dieci volte superiore a quello delle gravidanze singole, inoltre il rischio di ipertensione gestazionale risulta essere più alto in caso di gemellarità monozigotica; anche l'anemia e l'emorragia post partum risultano essere

più frequenti in caso di gravidanza gemellare, la prima probabilmente per un aumento più cospicuo del volume plasmatico, la seconda sia per la maggiore superficie di inserzione placentare sia per una maggiore sovradistensione uterina con aumentata tendenza all'atonia. Fattore importante nel determinismo delle complicazioni materne e fetali in corso di gravidanza gemellare potrebbe essere la placentazione anomala che avrebbe conseguenze ancor più importanti di quelle che si verificano in corso di gravidanza singola, per la necessità di assicurare l'apporto metabolico a più feti. ⁵

Le gravidanze gemellari complicate da pre-eclampsia, oltre che una maggior incidenza di parto pretermine, hanno mostrato un più elevato tasso di SGA e di discordanza per il peso alla nascita rispetto a gravidanze gemellari in donne normotese.⁶

Anche il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) è molto comune nella gravidanza gemellare e può interessare uno o entrambi i gemelli, presentando un'incidenza variabile dal 25 al 33%. Esso viene definito sia in base alla biometria fetale inferiore al 10° percentile rispetto a quella attesa per un feto singolo per una data epoca gestazionale, sia per una discordanza di crescita tra i gemelli superiore al 20%.

Per quanto riguarda le malformazioni congenite, esse presentano una maggiore incidenza nelle gravidanze gemellari monocoriali rispetto che in una gravidanza singola; al contrario nelle gravidanze dizigotiche il rischio per ogni feto è identico a quello della gestazione singola. Tale differenza è da attribuire al fatto che la gemellarità monozigotica è essa stessa il risultato di un'anomalia dello sviluppo embrionale, inoltre alcuni fattori endogeni ed esogeni responsabili della gemellarità possono essere, al tempo stesso, causa di anomalie congenite.

Occorre ricordare che il problema più importante nelle gravidanze multiple resta comunque il parto pretermine.

CLASSIFICAZIONE DELLE GRAVIDANZE MULTIPLE: GEMELLI MONOZIGOTI E DIZIGOTI

I tassi di gravidanze plurime variano nei diversi Paesi. L'incidenza della gravidanza bigemina monozigote è di 3-4 per 1.000 parti e sembra non essere influenzata da fattori noti, mentre quella delle gravidanze dizigotiche risulta dipendere dalla razza, dall'età materna (per le donne tra i 30 e i 35 anni la probabilità di gravidanze dizigoti è doppia rispetto alle donne al di sotto dei 20 anni), dalla familiarità e dall'uso, sempre più diffuso, di tecniche di riproduzione assistita.

GEMELLI MONOZIGOTI

Si definiscono monozigoti o monovulari quei gemelli che provengono da un unico zigote il quale, nel corso dei suoi primi 15 giorni di vita, si divide in due parti uguali che si sviluppano autonomamente, dando origine, anziché a uno solo, a due individui con lo stesso patrimonio genetico. L'evento della divisione dello zigote è del tutto casuale e non è legato a familiarità.

I gemelli monozigoti appartengono sempre allo stesso sesso e presentano caratteri somatici e psichici molto simili tra loro, in quanto, avendo avuto origine da un unico uovo e da un unico spermatozoo, hanno ereditato dai genitori gli identici caratteri psicosomatici.

Le gravidanze monocoriali straordinariamente presentano più di due feti.

In genere, le gravidanze multiple sono polizigotiche, anche se talora una coppia di feti può avere origine monozigotica.

Si hanno diverse condizioni a seconda dello stadio di sviluppo in cui avviene la divisione dello zigote:

- ❖ La divisione avviene tra il 1° e il 3° giorno dopo la fecondazione (stadio diblastomerico, a due blastomeri): si sviluppano due corion (e quindi due placenti) e due sacchi amniotici e si parlerà di gemelli monozigoti bicoriali-biamniotici; questo evento si verifica in circa un terzo dei casi.

Nella gravidanza multicoriale iniziale i singoli embrioni sono divisi dai due strati di corion che appaiono come un evidente setto che può superare un centimetro di spessore e che divide le rispettive camere amniotiche. Tale strato si assottiglia progressivamente con la crescita delle camere gestazionali fino a costituire nel secondo trimestre una sottile membrana anche inferiore ai 2 mm di spessore.

- ❖ La divisione avviene tra il 4° e l'8° giorno dopo la fecondazione, momento in cui è già avvenuta la differenziazione del trofoblasto placentare ma non ancora della cavità amniotica: avremo quindi un solo corion ma due sacchi amniotici e si parlerà pertanto di gemelli monozigoti monocoriali-biamniotici. Ciò avviene in due terzi delle gravidanze monozigoti. La placenta monocoriale spesso si presenta come disco unico, più raramente come due strutture placentari separate connesse da piccoli ponti (rilievo osservato nei gemelli congiunti).

- ❖ La divisione si verifica tra il 9° e il 12° giorno dopo la fecondazione, momento in cui anche la differenziazione della vescicola amniotica risulta completa: si sviluppano un solo corion e un solo sacco amniotico e definiremo quindi tali gemelli monocoriali monoamniotici. Essi rappresentano appena l'1% delle gravidanze MZ.
 La diagnosi di gravidanza monoamniotica può essere sospettata in presenza di embrioni molto contigui, ma non può essere fatta prima della 8° settimana di gestazione. E' tuttora controverso il numero dei sacchi vitellini associati alla gravidanza monoamniotica, sebbene in letteratura venga asserito l'assioma che ad ogni cavità amniotica corrisponda un sacco vitellino.

- ❖ Nel caso raro (1:100000 parti) in cui la divisione si verifichi oltre il 12° giorno dal concepimento, il risultato è una gravidanza monocoriale monoamniotica con gemelli congiunti (cosiddetti siamesi). Esistono vari tipi di gemelli congiunti, a seconda del punto di unione.
 Si definiscono catadidimi quelli in cui la metà superiore del corpo è unica, mentre la parte inferiore è separata. Tra essi, un tipo particolare è rappresentato dai sincefali, gemelli che condividono un'unica testa.
 Gli anadidimi, invece, sono quei gemelli che presentano la metà superiore del corpo disgiunta e la metà inferiore in comune.
 I cata-anadidimi condividono un tratto corporeo più o meno esteso e, in base ad esso, vengono distinti in:
 - toraco-onfalopaghi: il tipo più frequente, con unione a livello del torace e della parete addominale anteriore.
 - ischiopaghi: unione a livello anteriore del bacino.
 - pigopaghi: unione a livello del sacro.
 - parapaghi: fusione laterale.

GEMELLI DIZIGOTI

La gemellarità dizigota o biovulare deriva dallo sviluppo di due cellule uovo fecondate da due diversi spermatozoi. I nascituri potranno essere sia di sesso diverso sia dello stesso sesso ma non saranno geneticamente simili. E' possibile assimilarli a comuni fratelli.

La gemellarità dizigota è conseguente ad una poliovulazione che può essere ereditaria, di origine etnica, correlata all'età o iatrogena per la somministrazione di gonadotropine o altri ormoni, cause queste che hanno tutte in comune una iperattività ipofisaria risultante in un aumento dei livelli di FSH. Fra le gravidanze dizigotiche vanno anche menzionate quelle conseguenti a "superfecondazione" in cui due ovociti sono fecondati, a breve distanza di tempo l'uno dall'altro, da due spermatozoi provenienti da coiti diversi e quindi, ipoteticamente, da padri diversi (caso riportato da Teraski nel 1978 in cui le differenze antigeniche HLA dei 2 gemelli provavano la diversa origine dei gameti maschili).

I multipli zigoti si impiantano in modo indipendente a livello della parete uterina, quindi avranno placente separate, ma contigue, con circolazioni fetali di norma indipendenti e non comunicanti (gravidanza bicoriale o policoriale).

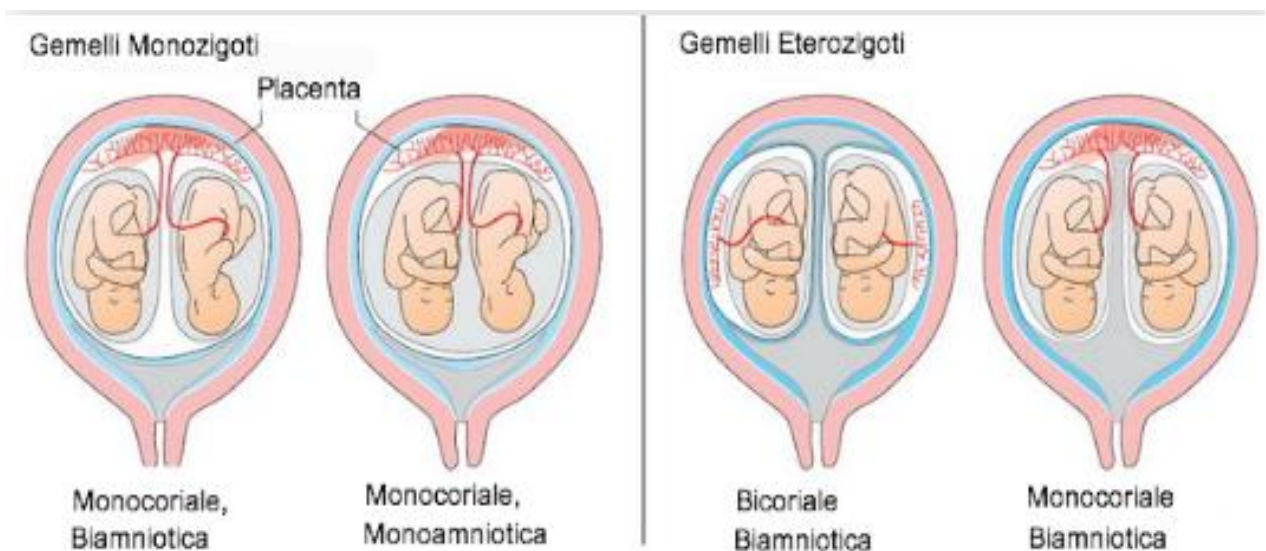


FIGURA 1: Evoluzione della placentazione nei gemelli monozigoti e dizigoti

Alcune evidenze dimostrano nei mammiferi e persino nell'uomo l'esistenza di un terzo tipo di gemelli: MZ non identici, derivanti comunque da una singola ovulazione; questo fenomeno si verificherebbe qualora un ovocita con 2 nuclei venisse fecondato da 2 spermatozoi, o qualora vengano fecondati da 2 spermatozoi sia l'ovocita vero e proprio, sia il suo secondo globulo polare, creando dei gemelli provenienti da un singolo genoma materno, ma da due genomi paterni (due spermatozoi). L'incidenza di questo particolare tipo di gravidanze gemellari potrebbe ammontare a circa all'1% dei gemelli classificati come DZ per alcune diversità nei loro genotipi. In tal modo si spiegherebbe anche la evidenza di un solo corpo luteo associato a gemelli classificati come DZ, pur considerando la possibilità che un secondo corpo luteo sia nascosto in posizione difficilmente osservabile. Il concetto è stato sviluppato da Boklage nel 1987 che ha suggerito il termine di "ovocita terziario" piuttosto che di fecondazione del corpo polare.

DIAGNOSI NON INVASIVA DI CORIONICITA', AMNIONICITA' E ZIGOSITA' NELLE GRAVIDANZE GEMELLARI

Lo studio dettagliato delle fasi di sviluppo embrionale in tempi appropriati permette di individuare o escludere la gravidanza multipla. Una diagnosi tempestiva ed accurata è pertanto possibile solo dopo l'individuazione certa di ogni singolo embrione e/o relativo annesso embrionale, consistente "visivamente" nel sacco vitellino. Eccezionalmente, in alcuni casi rarissimi di gravidanza monoamniotica o nei gemelli congiunti, esiste un'associazione di due embrioni con sacco vitellino singolo.

La diagnosi di corionicità, amnionicità e zigosità non sempre è di agevole determinazione nelle gravidanze plurime e, in passato, la conoscenza del tipo di placentazione o di zigosità era resa molto difficile dato lo scarso potere risolutivo della diagnostica per immagini.

Oggi l'elevato potere di risoluzione delle moderne apparecchiature ultrasonografiche consente di conoscere con largo anticipo e con un adeguato grado di certezza il tipo di placentazione nelle gravidanze multiple, fornendo informazioni decisive sotto il profilo clinico e prognostico. Un ecografista esperto è in grado di evidenziare la presenza intrauterina di più embrioni già alla 5° settimana di gestazione, definendone il numero. Possiamo pertanto affermare che l'approccio ecografico alla diagnosi prenatale di corionicità raggiunge attualmente un'affidabilità del 95% circa, con il vantaggio di essere innocuo, incruento e ripetibile.

La gravidanza plurima multicoriale può essere individuata molto precocemente, già a 4 settimane di amenorrea, nel momento in cui si osservino due o più camere gestazionali nelle rispettive sedi di impianto nella decidua gravidica. In questa fase gestazionale possiamo però solo esprimere una diagnosi sul numero minimo di embrioni presenti, sapendo che in una singola camera gestazionale possono evidenziarsi in seguito altri embrioni: bisognerà quindi attendere il palesarsi dei segni ecografici distintivi della presenza degli embrioni, quali il riscontro del battito cardiaco embrionale o meglio ancora della vescicola cerebrale a 6/7 settimane.

Bisogna attendere quindi le 7/8 settimane di amenorrea per verificare l'amnionicità. Nella pratica clinica, per determinare con certezza la corionicità e l'amnionicità nelle gravidanze multiple, è necessario uno studio ecografico non prima delle 7/9 settimane di amenorrea e non oltre le 11/12 settimane; tale studio deve essere mirato al riconoscimento di markers specifici

quali il numero delle placente, il numero delle membrane amniocoriali, lo spessore del setto interamniotico e la rilevazione del segno "lambda" (o "segno del doppio picco"). Quest'ultimo corrisponde alla duplicazione dei foglietti coriali nel punto di inserzione placentare e la sua presenza a 11-14 settimane di epoca gestazionale consente di definire bicoriale la gravidanza (con una sensibilità del 100% e una specificità dell'86%), mentre la sua assenza e la presenza del cosiddetto "segno della T" (la sezione ecografica della congiunzione ad angolo retto delle due membrane amniotiche con il corion produce un'immagine caratteristica a T), consentono di definirla come monocoriale; a volte questo ultimo segno non è facilmente riconoscibile, in tal caso si possono ricercare segni sussidiari per la diagnosi di corionicità, quali lo spessore della membrana divisoria tra i due sacchi amniotici: uno spessore inferiore a 2 mm è indicativo di gravidanza monocoriale mentre l'identificazione di almeno tre lamine delle quattro presenti nelle gravidanze multicoriali suggerisce che si tratti della suddetta condizione di multicorialità. Detta valutazione è puramente visiva e soggettiva, dipendente dall'esperienza dell'operatore.



FIGURA 2 Gravidanza monocoriale all'ottava settimana di gestazione

Bisogna prestare attenzione all'eventuale presenza di artefatti, come la presenza del cosiddetto "pseudo-lambda sign", dovuto a una nicchia residua di celoma extra embrionario tra le due cavità amniotiche che potrebbe simulare, soprattutto in presenza di artefatti da riverbero, un cuneo di corion caratteristico per il lambda sign.⁷

In conclusione, si può dire che, nel primo trimestre, essendo il sepimento che differenzia i due sacchi ben visibile nella maggior parte dei casi, risulti abbastanza agevole differenziare la gestazione bicoriale da quella monocoriale.

Non altrettanto semplice è differenziare la gestazione monocoriale biamniotica da quella monocoriale monoamniotica. La diagnosi può essere effettuata ricorrendo alla metodica ecografica per via endovaginale ma, soprattutto, contando i sacchi vitellini, il cui numero deve essere pari a quello dei sacchi amniotici.

Dopo la 15° settimana di gestazione, nel caso di gravidanze biamniotiche, soprattutto monocoriali, i segni ecografici appaiono meno agevoli da identificare, spesso anche a causa dello sviluppo di un marcato oligoidramnios in uno dei sacchi amniotici, con accollamento delle membrane al corpo fetale e conseguente difficile identificazione della membrana divisoria tra due sacchi amniotici (gemello bloccato).

E' importante sottolineare che la diagnosi ecografica di corionicità e amnionicità risulta quindi essere più semplice nel primo trimestre di gestazione, diventando estremamente difficoltosa o comunque rimanendo come una diagnosi di probabilità in epoche gestazionali più avanzate (nel terzo trimestre l'ingombro dei gemelli rispetto al liquido amniotico è tale da rendere arduo ogni tentativo di identificazione della membrana interamniotica).

Il sesso dei gemelli infine, se discordante, permetterà la diagnosi differenziale di zigosità. La monozigosità può essere determinata con certezza solo se si è sicuri che la gravidanza sia monocoriale e nel caso in cui si individuino sessi concordanti.



FIGURA 3: Gravidanza bicoriale all'11° settimana di gestazione

La dizigosità può essere asserita solo in presenza di bicorialità con sessi discordanti. Una gravidanza bicoriale biamniotica con sesso concordante può essere monozigotica qualora la divisione dello zigote si sia verificata entro il terzo giorno dal concepimento. In tali casi bisogna includere nel protocollo diagnostico l'esecuzione dell'ecocardiografia per l'elevata incidenza di malformazioni, tipica della gestazione monozigotica.

Per stabilire con sufficiente sicurezza la diagnosi di amnionicità, di corionicità e di zigosità è bene seguire un iter diagnostico che risulterà essere parzialmente diverso in relazione all'epoca di gestazione nella quale si effettua l'esame ecografico:

- ❖ Nel primo trimestre di gestazione è importante definire innanzitutto il numero delle camere gestazionali, specificando se ci si trova in una condizione di monocorialità, di bicorialità, tricorialità, tetracorialità, etc.

- ❖ Secondariamente, è opportuno definire il numero di embrioni presenti in ciascuna camera: se osserviamo due embrioni si tratta di gravidanza gemellare monocoriale ed è importante valutarne l'amnionicità. Nel primo trimestre di gravidanza questa valutazione può essere molto difficile data la sottigliezza del setpimento interamniotico, il quale può essere evidenziato solo con l'esame ecografico transvaginale. Una volta definite la corionicità e l'amnionicità, si passa ad esaminare il numero dei sacchi vitellini visualizzabili all'esame ecografico. Poichè tale numero, in una gravidanza gemellare monocoriale, corrisponde al numero dei sacchi amniotici, la conta dei sacchi vitellini ci permette di stabilire con precisione se una gravidanza gemellare monocoriale sia mono- o bi-amniotica, contribuendo a diminuire le possibilità di errore nel riconoscere una gravidanza gemellare monocoriale alla 6^a - 8^a settimana.

In presenza di un solo sacco vitellino e di due embrioni vivi in una stessa camera gestazionale (gravidanza monocoriale monoamniotica) bisognerà accertarsi con ripetuti controlli ecografici nel corso del primo trimestre che i gemelli non siano congiunti.

E' solo intorno alla 10^a - 12^a settimana di gestazione che potrà essere posta con certezza la diagnosi di gemellarità congiunta stabilendo, nella maggior parte dei casi, il tipo di congiunzione fetale (catadidimi, anadidimi, cata-anadidimi).⁸

- ❖ Qualora l'osservazione ecografica di una gravidanza bigemina avvenga dopo la 16^a settimana di gestazione, ovvero nel secondo trimestre, l'iter diagnostico ecografico sarà differente e inizierà dall'osservazione dei genitali esterni dei feti: se questi sono

discordanti, quindi il sesso fenotipico risulta differente tra i due gemelli, ed i feti presentano placente distinte con setto interamniotico spesso, la gemellarità è dizigotica. Se, invece, i genitali fetali sono dello stesso genere bisogna osservare le caratteristiche della placentazione: se le placente sono distinte e ben separate si tratterà di una gemellarità bicoriale biamniotica; al contrario, nel caso in cui la placenta sia unica, si devono valutare le caratteristiche del setto posto a divisione delle camere gestazionali.

Se il setto interamniotico sarà evidenziabile e spesso, si tratterà di una gravidanza bicoriale biamniotica ed in tal caso la placenta non è unica, ma si tratta di due placente contigue e distinte; nel caso in cui, invece, il setto sarà sottile, si tratterà di una gravidanza monocoriale biamniotica.

Qualora il setto interamniotico non risulti identificabile, si deve essere molto cauti prima di asserire che si tratti di gravidanza monocoriale monoamniotica, poiché uno dei feti potrebbe essere affetto da un severo oligoidramnios ed in tal caso le membrane amniotiche, essendo adese al feto, non risulterebbero visibili. Questo quadro ultrasonografico prende il nome di “stuck twin” o gemello incarcerato e deve essere valutato attentamente poiché potrebbe portare l’ecografista a fare un’errata diagnosi di Twin-Twin Transfusion Syndrome (TTTS); il riscontro di tale condizione non è infatti esclusivo o patognomonico di tale sindrome e non dovrebbe essere considerato, pertanto, un criterio diagnostico della stessa.⁹

Talora, le membrane potrebbero essere mal visibili a causa del cospicuo spessore del pannicolo adiposo della paziente, che comprometterebbe il potere di risoluzione ecografico rendendolo non eccellente.

Occorre quindi valutare ripetutamente e accuratamente dal punto di vista ecografico una paziente in cui si sospetti una gravidanza gemellare monocoriale monoamniotica, sia al fine di fare una diagnosi di certezza, essendo tale tipologia di gravidanza relativamente rara, sia per evidenziare e monitorare tempestivamente eventuali problematiche fetali e materne, in questo caso più frequenti rispetto che in altri tipi di gemellarità.

VANISHING TWIN E MORTE INTRAUTERINA DI UN GEMELLO

La sindrome del gemello scomparso o del gemello evanescente (“Vanishing Twin Syndrome”, VTS) fu riconosciuta per la prima volta nel 1945.

Si tratta del risultato di un aborto di uno dei feti tra i due o più presenti nell’utero; il tessuto fetale viene come riassorbito, totalmente o parzialmente, dall’altro (o dagli altri) feti rimasti, dalla placenta o dalla madre, dando appunto l’impressione di essere “scomparso”.

Si stima che in più del 50% delle gravidanze che iniziano con tre o più camere gestazionali si verifichi la riduzione numerica spontanea di almeno un feto prima della 12° settimana di gestazione. E’ plausibile che la prevalenza di una riduzione spontanea del numero dei feti sia in realtà molto più elevata, poiché la VTS può essere spesso misconosciuta nel corso della gravidanza.¹⁰

I fattori scatenanti sono spesso sconosciuti, sebbene probabilmente da ricondurre in molti casi a processi di placentazione errata.

E’ ormai noto come la Vanishing Twin Syndrome sia associata a un aumento sostanziale del rischio di sviluppo di malformazioni congenite per il feto sopravvissuto; tra queste soprattutto anomalie dello sviluppo cerebrale (nel 46% dei casi), come la paralisi cerebrale infantile, o altri difetti nello sviluppo cardiaco, renale, epatico, cutaneo, polmonare e intestinale, fino a condurre alla morte intrauterina nel 25% dei casi; probabilmente la patogenesi di tali anomalie è da ricondurre a processi di ischemia attribuibili ad uno sbilanciamento emodinamico dovuto alla presenza di anastomosi significative a livello placentare.¹¹

Emboli di necrotossine passando, attraverso gli shunts placentari, dal feto morto a quello vivo, determinerebbero lesioni ischemiche a livello di vari organi e apparati, alcune delle quali non compatibili con la sopravvivenza del feto. Secondo altre teorie, il feto sopravvissuto potrebbe andare incontro ad exitus anche per una commistione di sangue con quello del gemello morto, con conseguente ipovolemia grave, anemia e sofferenza fetale cronica, la cui gravità dipenderebbe dal numero e dall’entità delle anastomosi placentari.

Se un gemello va incontro a decesso nel corso del secondo trimestre e la gravidanza prosegue fino al termine, si reperirà un feto papiraceo; se la gravidanza si interrompe subito dopo il decesso, il gemello morto presenterà segni di macerazione più o meno spiccata.¹²

Alla luce di questo, è quindi possibile ipotizzare che eventuali malformazioni congenite in nati da gravidanze apparentemente non gemellari possano essere ricondotte a danni fetali su base ischemica dovuti alla perdita precoce di un altro feto. ¹³

Nelle gravidanze gemellari monocoriali il rischio di malformazioni congenite dei feti è, infatti, più frequente rispetto alle gravidanze con feto unico. Anomalie presenti in entrambi i feti si evidenziano nel 15% dei casi, mentre nell'85% dei casi interessano solo uno dei due feti. Alcune malformazioni non sono compatibili con la vita del feto (ad esempio, igroma cistico, idrope, Sindrome di DandyWalker, malformazioni cardiache, ecc.), altre possono portare alla morte del neonato, qualora non vengano adeguatamente trattate in epoca perinatale (ad esempio, ernia diaframmatica congenita).



FIGURA 4: Feto papiraceo

COMPLICANZE OSTETRICHE E OUTCOME NEONATALE

Le gravidanze gemellari possono risultare, rispetto alle gravidanze singole, più difficili e impegnative nel loro decorso e l'incidenza di complicanze perinatali sia per la madre che per il feto sono maggiori per questo tipo di gravidanze, in particolare nel caso di gemellarità monooriale, situazione in cui morbidità e mortalità perinatale sono da 3 a 5 volte più elevate rispetto alle gravidanze bicoriali. Per tale motivo la diagnosi prenatale di corionicità riveste un'importanza fondamentale.

Le gravidanze gemellari, in particolare in caso di monoorioricità, mostrano un'aumentata incidenza di complicanze, quali:

- Aborto spontaneo
- Malformazioni fetali e anomalie cromosomiche
- Ridotto accrescimento fetale intrauterino (IUGR) e basso peso alla nascita
- Mortalità perinatale; tale aumento si stima intorno al 10% nelle gravidanze monoorioriali e può raggiungere il 40-50% nelle gravidanze monoorioriali monoamniotiche
- TTTS
- Sindrome del gemello acardico e TRAP
- Vanishing Twin
- Disturbi neurologici, quali la leucomalacia periventricolare (PVL) e/o emorragia intraventricolare (IVH); tali disturbi sono tipici soprattutto dei gemelli monoorioriali per ridotta perfusione cerebrale dovuta a squilibri transitori del sistema cardiovascolare e placentare.
- Enterocolite necrotizzante (NEC), la cui incidenza è più che doppia nei neonati SGA (a prescindere dalla gravità della SGA) rispetto ai neonati AGA. La causa della sua maggiore incidenza risiederebbe in alterazioni del circolo fetale per la presenza di anastomosi placentari, con conseguenti episodi di ipovolemia che favorirebbero lo sviluppo del quadro di necrosi, edema ed emorragia tipico della NEC. ¹⁴

Per quanto riguarda la madre vi è un maggior rischio di:

- Ipertensione gravidica.
- Emorragia postpartum e distacco di placenta.

- Anemia, per aumentato fabbisogno di ferro; si ricorda inoltre che l'incremento del volume ematico materno è maggiore che nella gravidanza singola.
- Diabete gestazionale: la gravidanza gemellare rappresenta un fattore di rischio, insieme a fattori ambientali, dietetici, razziali e genetici, per lo sviluppo di diabete gestazionale. I neonati le cui madri hanno presentato elevati livelli di glicemia per buona parte della durata della gravidanza mostrano una più alta incidenza di macrosomia, ipoglicemia, ipocalcemia, policitemia e difficoltà respiratorie. ¹⁵
- Nausea, vomito e disturbi da ingombro (dispnea, varici agli arti inferiori, compressioni dello stomaco o dell'intestino, andatura difficoltosa).
- Preeclampsia (si ritiene che il ricorso all'ovodonazione nelle tecniche di riproduzione assistita possa aumentare il rischio di preeclampsia nelle gravidanze gemellari). ¹⁶
- Tendenza allo sviluppo di un polidramnios di tipo cronico.
- Tendenza al parto pretermine, che si verifica nell'80% dei casi, con durata media della gravidanza pari a 35 settimane;
- Aumento della mortalità materna, triplicata nella bigemina rispetto alla gravida con feto singolo, indipendentemente dall'età materna, dalla razza, dalla situazione coniugale o dal titolo di studio. ¹⁷

PARTO PRETERMINE E GRAVIDANZA MULTIPLA

Si stima che il 52,2% delle gravidanze multiple esiti in un parto pretermine prima della 37° settimana di gestazione e che il 10,7% di queste esiti in un parto pretermine prima della 32° settimana di epoca gestazionale.

Il tasso di mortalità neonatale nei gemelli è da sei a sette volte più elevato rispetto alle gravidanze singole, e la prematurità, con tutte le complicanze che ne conseguono (ARDS, dotto di Botallo pervio, NEC, IBH, displasia broncopolmonare) è responsabile dei $\frac{3}{4}$ dei casi di decesso.

La mancata responsività al trattamento con Progesterone nelle gravidanze gemellari (a differenza delle gravidanze singole, che invece rispondono a tale tipo di trattamento con conseguente parziale prevenzione del parto pretermine) è indice del fatto che, alla base dell'insorgenza di parto pretermine in gravidanze singole e multiple, vi siano meccanismi differenti.

Nelle gravidanze gemellari, l'aumentato numero di feti determina una maggiore pressione sulle pareti uterine, con sovradistensione delle stesse e conseguente inizio prematuro delle contrazioni. E' stato inoltre ipotizzato che aumentati livelli di CRH placentare nelle gravidanze multiple possano essere correlati al rischio di parto pretermine, così come anche possibili fattori prodotti a livello polmonare fetale, quali la SP-A (surfactant protein-A) o il PAF (platelet-activating factor) possano agire da stimolo ormonale stimolando la contrattilità miometriale.¹⁸

Il parto pretermine nel caso di gravidanze gemellari potrebbe inoltre essere favorito da condizioni quali una maggiore distensione intramniotica, polidramnios, infezioni, incontinenza cervicale o rottura prematura delle membrane (PROM), tutte condizioni più frequenti in caso di gravidanza multipla; inoltre, in una buona parte dei casi, esso è iatrogeno, ossia conseguente a un cesareo eseguito per un elevato rischio di complicanze fetali o materne, quali IUGR o preeclampsia.¹⁹

La mortalità perinatale nelle gravidanze singole aumenta significativamente sopra la 42° settimana di gestazione, invece per le gravidanze multiple tale tasso risulta già aumentato a partire dalla 37° settimana.

Le gravidanze gemellari presentano un più alto rischio di mortalità e morbidità perinatale probabilmente come conseguenza della maggior incidenza di parto pretermine e di restrizione di crescita fetale intrauterina, inoltre tale rischio risulta notevolmente influenzato dal tipo di

corionicità, essendo più elevato nelle gravidanze monocoriali, probabilmente in relazione alle diverse modalità di placentazione e vascolarizzazione dei feti.

Nei gemelli monocoriali, anastomosi vascolari tra le circolazioni fetali sono sempre presenti a livello placentare, e il flusso sanguigno in tali distretti è di norma ben bilanciato; tuttavia più del 15% delle gravidanze monocoriali possono complicarsi con lo sviluppo della cosiddetta Twin-to-Twin Transfusion Syndrome (TTTS), associata ad alto rischio di mortalità fetale e neonatale, specie se sviluppatasi in fasi precoci della gravidanza.²⁰

RISCHI SPECIFICI DEI GEMELLI MONOCORIALI

TWIN-TWIN TRANSFUSION SYNDROME (TTTS)

La TTTS rappresenta una temibile complicanza delle gravidanze gemellari monocoriali, la cui frequenza è stimata tra il 9% e il 15% dei casi. Se non riconosciuta, e quindi non trattata, può comportare un elevato rischio di mortalità fetale (fino all'80-90%) e, qualora si verificasse la morte di un solo gemello, il sopravvissuto potrebbe andare incontro a gravi complicanze cardiologiche e neurologiche a seguito della brusca caduta pressoria (provocata da un rapido passaggio del sangue dal letto vascolare del feto vivo a quello del feto morto) che si verifica al momento della morte del co-gemello.

Le anastomosi a livello placentare sono presenti in quasi tutte le gravidanze monocoriali (nel 90%), risultando assenti invece nelle placenti delle gravidanze bicoriali, anche quando queste sono fuse per contiguità.

Abbiamo quattro tipologie di anastomosi: esistono quelle arteroarteriose (AA) e venovenose (VV), che decorrono solo sulla superficie della placenta e nelle quali il flusso ematico è bidirezionale (esse sono protettive per lo sviluppo della TTTS), le arterovenose (AV) e le venoarteriose (VA). Queste ultime si collocano profondamente attraverso il letto capillare dei cotiledoni placentari e comportano il passaggio diretto del sangue da una circolazione di un feto a quella dell'altro.¹⁶

Se tale passaggio risulta, anche solo parzialmente, monodirezionale si crea uno squilibrio idrostatico e osmotico che è alla base dello sviluppo di tale sindrome: un feto, quello che riceve più sangue e per questo detto "ricevente", va incontro a un sovraccarico di liquidi, con conseguente maggiore produzione di urina e aumento della produzione di liquido amniotico (polidramnios); il feto donatore diviene invece ipovolemico, produce meno urina e si avrà una riduzione del liquido contenuto nel suo sacco amniotico, con conseguente oligoidramnios.

Il gemello "ricevente" andrà incontro, come conseguenza del sovraccarico volumico, a policitemia, ipertensione e scompenso cardiaco con ipertrofia miocardica; il gemello "donatore" invece andrà incontro gradualmente ad anemia, ipotensione e ipovolemia, condizioni predisponenti allo sviluppo di un ritardo di crescita intrauterino.

L'evidenza ecografica di una sola placenta e di due sacchi amniotici, uno con polidramnios, l'altro con oligoidramnios, permette di fare diagnosi prenatale di TTTS.

L'oligoidramnios può essere talmente severo da non permettere la visione delle membrane amniotiche, essendo esse adese al feto, portando al cosiddetto quadro ultrasonografico di "Stuck twin".

La discrepanza di crescita tra i gemelli non rientra invece nei criteri diagnostici, anche se può essere evidenziata. Una volta fatta la diagnosi, è opportuno che la gravidanza interessata venga seguita nel tempo, valutando le eventuali possibilità terapeutiche da mettere in atto, quali l'amnioriduzione, al fine di ridurre il rischio di parto pretermine, e la coagulazione laser delle anastomosi placentari.

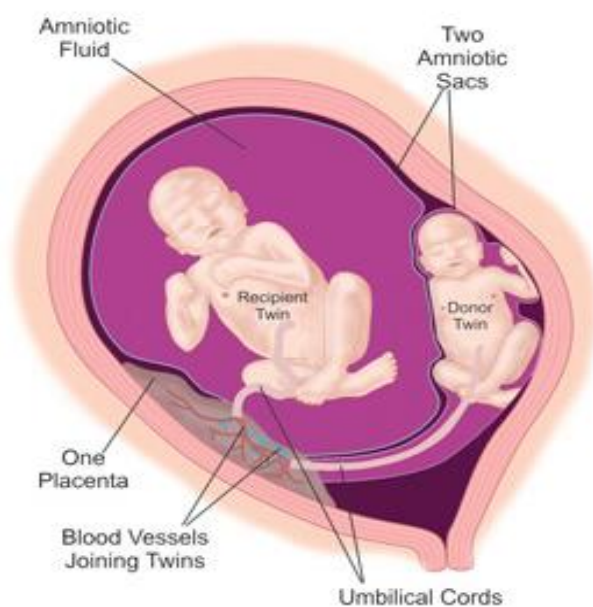


FIGURA 5: Twin-To-Twin Transfusion Syndrome (TTTS)

La TTTS può essere classificata in una forma acuta e in una forma cronica:

- ❖ La TTTS cronica si manifesta nelle fasi precoci della gravidanza (12-26 settimane di gestazione) e rappresenta, tra le due, la forma più grave. Lo sviluppo fetale è ancora in fase iniziale e i feti devono ancora passare molto tempo in utero prima del parto, tempo durante il quale aumenterà la possibilità di sviluppare anomalie conseguenti allo squilibrio emodinamico instauratosi. La sopravvivenza, in assenza di trattamento, è molto scarsa, e, nell'eventuale feto superstite, si riscontrano danni neurologici fino anche al 20-40% dei casi.

- ❖ Con TTTS acuta si identificano quei casi che si manifestano improvvisamente, nel momento in cui si registra una maggior differenza tra le pressioni sanguigne dei due feti. Essa può verificarsi sia durante il travaglio che durante il terzo trimestre di gravidanza, quando uno dei neonati presenta anomalie congenite gravi o va incontro ad exitus.

La forma acuta di TTTS si associa a un minor rischio di mortalità perinatale, ma a un maggior rischio di handicap nei gemelli sopravvissuti. Alla nascita i gemelli presenteranno parametri auxologici simili, pur presentando uno anemia e ipovolemia, l'altro policitemia e ipovolemia.

Il fenomeno del Vanishing Twin può essere ritenuto una forma acuta di TTTS che si instaura nel primo trimestre di gestazione.

Classificazione di Quintero

Vi è un sistema di classificazione che tenta di standardizzare i vari gradi di severità con cui i TTTS possono presentarsi; esso si basa sulla valutazione ecografica combinata con studio doppler di vena e arteria ombelicale e del dotto venoso.²¹

STADIO	ANOMALIA RISCONTRATA
1	Sequenza oligoidramnios-polidramnios. Vescica donatore visibile. Doppler normale in entrambi i gemelli.
2	Sequenza oligoidramnios-polidramnios. Vescica del donatore non visualizzabile. Doppler normale in entrambi i gemelli.
3	Sequenza oligoidramnios-polidramnios. Vescica del donatore non visualizzabile. Doppler anormale per entrambi i gemelli: nell'arteria ombelicale inversione o assenza di flusso in diastole, onda del dotto venoso con flusso inverso o flusso pulsatile nella vena ombelicale.
4	Idrope di uno o entrambi i gemelli
5	Morte intrauterina di uno o entrambi i feti

TRAP (TWIN REVERSE ARTERIAL PERFUSION SEQUENCE)

La sequenza TRAP (Twin Reversed Arterial Perfusion) è una complicanza rara della gravidanza gemellare monocoriale. E' caratterizzata dalla presenza di un feto con un normale sistema cardiocircolatorio (gemello pompa) e di un altro feto acardico, il quale, non presentando rapporti vascolari diretti con la placenta, riesce a sopravvivere solamente grazie ad una perfusione arteriosa retrograda sostenuta dal gemello "pompa".

Le circolazioni dei due feti sono collegate mediante anastomosi placentari artero-arteriose, per cui il sangue circola in senso retrogrado dal gemello pompa al gemello acardico.

Questo comporta un enorme sovraccarico funzionale per il cuore del gemello sano, con rischio di scompenso cardiaco e di mortalità perinatale variabile tra il 35% e il 55% dei casi.²²

A livello placentare l'esame anatomopatologico evidenzia la presenza di villi anomali e calcifici e di un'estesa vasculopatia trombotica che interessa i vasi del piatto coriale, i vasi ombelicali di entrambi i gemelli e gli organi del gemello sano; probabilmente l'eziopatogenesi della sequenza TRAP sarebbe proprio da ricondurre a tali fenomeni vasculopatici.

Il gemello acardico è come se fosse un vero e proprio parassita: il suo sangue presenta una bassa saturazione di ossigeno e la condizione di ipossiemia cronica cui è soggetto determina un insufficiente sviluppo di strutture corporee quali il cranio, il cuore, il torace e gli arti superiori; a differenza dei segmenti collocati cranialmente rispetto all'inserzione dell'arteria ombelicale, la metà inferiore del corpo risulta in genere ben sviluppata.

In caso di totale assenza delle strutture del cranio, il gemello sarà definito "acardico-acefalo"; nel caso in cui, invece, si sia verificato un parziale sviluppo del cranio (come presenza della sola base cranica) e degli arti, si parlerà di feto "acardico-mielacefalo"; se è impossibile riconoscere e identificare eventuali strutture corporee, visto il loro basso grado di sviluppo, avremo il quadro di feto "acardico-amorfo".²³ Frequente è inoltre il riscontro di onfalocele e di ispessimenti cutanei con aree similcistiche o igromatose a carico del collo e del tronco.

Il gemello "pompa" può presentare segni di idrope, con visceromegalia e in particolare epatosplenomegalia, versamenti pleurici e pericardici, cardiomegalia ed edema sottocutaneo.

La sequenza TRAP è inoltre associata frequentemente, nel caso di placentazione monocoriale biamniotica, a polidramnios (nel 50% dei casi), causato da un incremento del flusso ematico ai reni con conseguente aumento del volume urinario; l'eccesso di liquido amniotico può portare ad una prematura rottura delle membrane con rischio di parto pretermine, che si verifica in circa il 75% dei casi.

Il sangue fluisce dal gemello sano a quello acardico attraverso l'arteria ombelicale (che normalmente veicola il sangue in senso centrifugo dal feto alla placenta) e refluisce attraverso la vena ombelicale (che normalmente veicola il sangue in modo centripeto dalla placenta al feto). Da qui il nome di "Twin Reversed Arterial Perfusion Sequence".

La sequenza TRAP presenta un'incidenza di 1 caso su 35000 gravidanze (1% di tutte le gravidanze monocoriali).



FIGURA 6: gemello acardico all'ecografia

La diagnosi precoce di questa particolare complicanza, possibile già a partire dall'11° settimana di gestazione, si avvale dell'uso di immagini ultrasonografiche per via transvaginale; inoltre, mediante l'uso del color-Doppler, è possibile evidenziare l'inversione di flusso a livello dell'arteria ombelicale del gemello acardico. L'ecocardiografia fetale è essenziale per monitorare la funzionalità cardiaca del gemello pompa, evidenziando precocemente eventuali segni di scompenso, così da intervenire tempestivamente dal punto di vista terapeutico.

Una volta effettuata la diagnosi di TRAP, prima di proporre un'eventuale opzione terapeutica, è importante escludere la presenza di aberrazioni cromosomiche nel gemello "pompa"; esse infatti risultano abbastanza frequenti, presentando un'incidenza del 9%.

Non si sono riscontrati caratteri ereditari che possano influenzare lo sviluppo della sindrome e non è stata messa in evidenza la ricorrenza della stessa all'interno di una stessa famiglia.

L'acardia è una condizione di per sé incompatibile con la vita, quindi non suscettibile di alcun trattamento; è invece importante intervenire in modo tempestivo e appropriato per ridurre la mortalità nel gemello sano.

La discordanza di peso tra i due gemelli influenza notevolmente la prognosi: quando questa supera il 50% (con peso del gemello acardico maggiore di quello del gemello “pompa”) si ha la morte nel 64% dei casi; quando la discordanza di peso supera il 75%, l'exitus di entrambi i feti sopraggiunge nel 95% dei casi. Si può quindi affermare che il rischio di mortalità perinatale sia direttamente proporzionale al peso del feto acardico.

La terapia medica si avvale della somministrazione di 50 mg/die di Indometacina, al fine di prevenire lo sviluppo di polidramnios, e di Digossina, per ritardare l'insorgenza di scompenso cardiaco congestizio nel gemello sano.

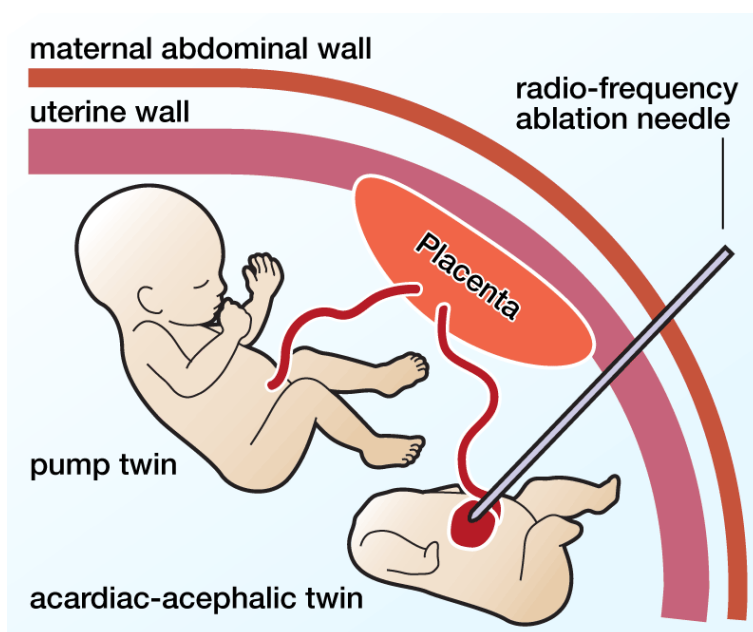


FIGURA 7: RFA IN TRAP SEQUENCE

Nei casi in cui il gemello acardico sia di grandi dimensioni e presenti un peso elevato, si consiglia di procedere tempestivamente (anche in modo profilattico con laser intrafetale a partire dalla 12° settimana di gestazione ²⁴) ad un trattamento di tipo invasivo endouterino, tramite l'impiego di radiofrequenze (RFA) o ablazione laser, al fine di interrompere le connessioni vascolari aberranti tra i due gemelli, così da mettere fine alla perfusione retrograda del gemello acardico. La RFA (Radio Frequency Ablation) rappresenta, ad oggi, il trattamento di prima scelta per questo tipo di patologia, in quanto più sicuro e affidabile.²⁵

ANNODAMENTO E COMPRESSIONE DEI FUNICOLI

Nel caso di gravidanza monocoriale monoamniotica i due feti condividono lo stesso sacco amniotico; ciò favorisce, in più dell'80% dei casi e sin dal primo trimestre di gravidanza, la formazione di veri e propri nodi tra i due funicoli ombelicali. Inoltre il cordone ombelicale di un gemello potrebbe girare intorno al collo dell'altro gemello, causando, nel caso in cui faccia più giri o sia avvolto in maniera stretta, ischemia cerebrale e asfissia nel feto interessato.

Tutte queste circostanze causano sofferenza fetale, indicata da accelerazioni e decelerazioni del battito cardiaco fetale rilevabili mediante cardiotocografia.

L'annodamento improvviso dei due cordoni, così come l'avvolgimento del cordone intorno al collo, sono eventi non prevedibili e non prevenibili e, oltre che essere responsabili di un possibile ritardo nello sviluppo fetale, possono essere causa dello sviluppo di anomalie cardiache e neurologiche nei feti interessati, sino ad essere responsabili del 50% delle morti endouterine in gravidanze monocoriali monoamniotiche.

IUGR (Intra Uterin Growth Retardation)

Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) rappresenta la causa principale di morbidità e mortalità fetale e neonatale. Esso è definito come un andamento di crescita intrauterina minore rispetto alla potenziale capacità di crescita di quello specifico feto, con una deviazione della curva di crescita intrauterina riconosciuta con almeno due consecutive valutazioni ecografiche prenatali. I termini IUGR e SGA (Small for Gestational Age) sono spesso usati in modo intercambiabile, tuttavia vi sono delle sostanziali differenze tra i due concetti.

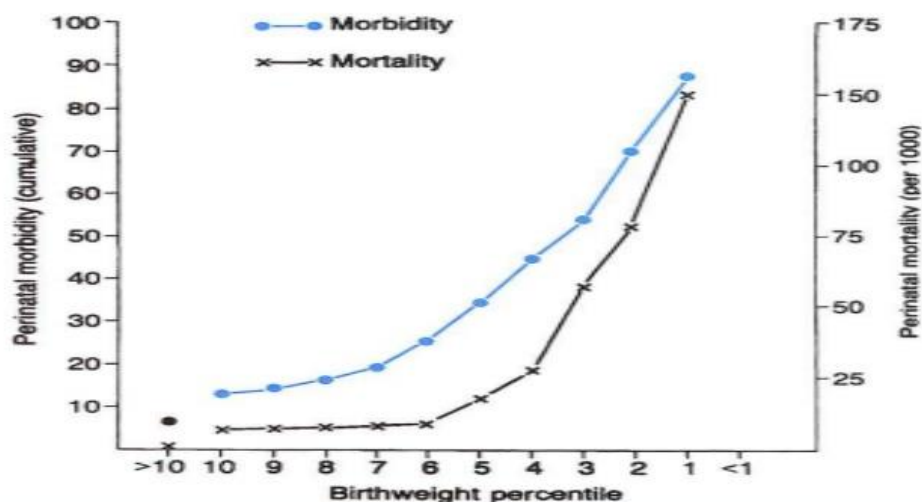
Viene definito piccolo per l'età gestazionale (Small for Gestational Age-SGA) il neonato con un peso e/o una lunghezza alla nascita inferiori a quelli attesi per l'età gestazionale e il sesso.

E' importante precisare che, mentre in neonatologia è generalmente definito SGA il neonato con peso alla nascita inferiore al 10° percentile per l'età gestazionale e il sesso, in endocrinologia pediatrica si raccomanda di considerare SGA il neonato con peso e/o lunghezza inferiori a -2 DS o al 3° percentile, perché questa definizione permette di identificare la maggior parte dei soggetti a rischio di bassa statura in età adulta e che richiedono quindi, un adeguato follow-up auxologico durante l'infanzia e successivamente nell'adolescenza.²⁶

Vengono invece considerati adeguati per l'età gestazionale (Appropriate for Gestational Age-AGA) i neonati con peso e lunghezza compresi tra il 10° e il 90° percentile e grandi per l'età gestazionale (Large for Gestational Age-LGA) i neonati con peso e/o lunghezza alla nascita superiori al 90° percentile.

Nel loro insieme i difetti di crescita rappresentano un fattore concomitante nel 26% delle morti intrauterine, con un rischio di mortalità perinatale da 4 a 8 volte superiore a quello della popolazione normale, mentre circa la metà di quelli che sopravvivono hanno sequele a breve o a lungo termine. Inoltre dal 9 al 27% dei feti affetti da ritardo di accrescimento presentano anche anomalie anatomiche o genetiche con un rischio fino a tre volte maggiore della media, di anomalie strutturali gravi (come nel caso dell'agenesia renale bilaterale) o severe trisomie autosomiche (come la trisomia 18).

FIGURA 8: Influenza del peso alla nascita su mortalità e morbidità perinatale



Esistono due differenti tipi di ritardo di accrescimento intrauterino:

- **Asimmetrico** (o sproporzionato o late flattening), caratterizzato da una rapida riduzione della crescita nell'ultima parte della gravidanza. È la forma più frequente ed è caratterizzato da una riduzione maggiore del peso rispetto alla lunghezza; l'indice ponderale (peso/lunghezza x100) è ridotto e la principale causa è l'insufficienza placentare.
- **Simmetrico** (o proporzionato o low profile) risultante da un costante e consistente ritmo di crescita subottimale, difficile da distinguere di per sé dai limiti inferiori di una crescita normale. L'indice ponderale (peso/lunghezza x100) risulta normale. Le cause principali sono rappresentate da infezioni e sindromi congenite.

Eziologia del ritardo di crescita intrauterino

La normale crescita fetale è caratterizzata all'inizio da iperplasia cellulare, seguita da un'iperplasia più ipertrofia e infine dalla sola ipertrofia.¹

Lo IUGR è il risultato di numerose patologie che riducono le dimensioni cellulari e, se avviene precocemente e in modo severo, il numero delle cellule. Tali patologie includono alterazioni di tipo fetale, materno, uterino e placentari. Fattori di rischio sono rappresentati inoltre dal fumo di sigaretta, dalla malnutrizione materna e da malattie vascolari materne.

Come dimostrato da svariati studi anche carenze ormonali (insulina, IGF-1, IGF-2, IGFBPs) possono essere causa dello sviluppo di IUGR; in particolare la carenza di IGF-1 durante la gestazione sembra essere una delle principali cause di ritardo di crescita fetale. L'IGF-1 è un ormone anabolizzante che svolge un ruolo importante sia in ambito di sopravvivenza cellulare che di sviluppo tissutale; inoltre ha anche azione antinfiammatoria, antiossidante e antifibrogenetica. E' un ormone fondamentale per la crescita e la differenziazione fetale e placentare, infatti la placenta rappresenta una delle maggiori sorgenti di IGF-1 durante il periodo gestazionale.²⁷

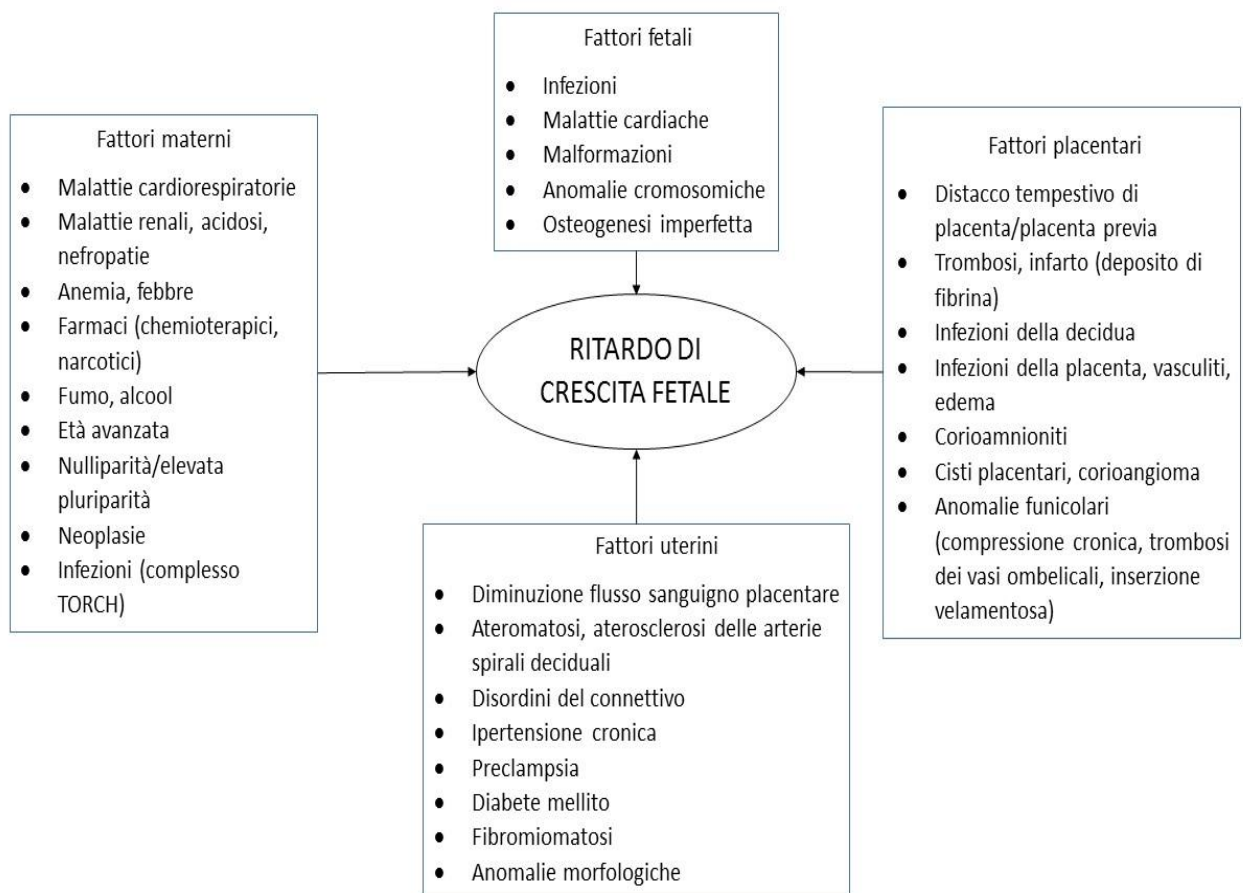


FIGURA 9 Eziologia del ritardo di crescita intrauterino¹

Feti umani affetti da ritardo di crescita da moderato a severo possono essere studiati precocemente con tecniche invasive e non. Tramite il doppler si possono mettere in evidenza risposte di adattamento che vanno da un'iniziale aumento della gittata cardiaca associata a una redistribuzione del sangue verso organi essenziali per la sopravvivenza fetale: l'ipossia causa una dilatazione della vascolarizzazione cerebrale, cardiaca e surrenalica fetale, con conseguente aumento del flusso sanguigno in questi distretti; quando questo meccanismo di compenso fallisce e si verifica una caduta della gittata cardiaca, la diminuita resistenza a livello della vascolarizzazione cerebrale, porta via dal tronco (e perciò dalla placenta) sangue desaturato verso il cervello. Questi adattamenti circolatori prenatali sono responsabili di un alterato sviluppo del sistema cardiovascolare, con alterazione della sua funzione ed elevato rischio di morbilità cardiovascolare durante l'infanzia e a lungo termine anche in età adulta.²⁸

Molteplici studi epidemiologici hanno dimostrato come una restrizione di crescita endouterina rappresenti un fattore di rischio per lo sviluppo, in età giovane adulta, di sindrome metabolica o di una delle sue componenti (insulino-resistenza, iperinsulinemia, ridotta tolleranza glucidica, DM tipo 2, ipertensione arteriosa, obesità e dislipidemie). Alla base di tale correlazione probabilmente vi sono delle alterazioni compensatorie del setting endocrino-metabolico cui va incontro il feto quando esposto a condizioni intrauterine sfavorevoli: l'instaurarsi di un'insulino-resistenza e l'aumento dei livelli ematici di glucosio eserciterebbero infatti un effetto neuroprotettivo. Tanto minore è il peso del neonato alla nascita e tanto più elevata è la velocità di crescita di recupero post-natale, tanto maggiore è il rischio di sviluppare sindrome metabolica in età adulta.²⁹

Oltre che per alterazioni di ordine metabolico, la condizione di IUGR/SGA rappresenta un fattore di rischio significativo per lo sviluppo di deficit cognitivi, psicologici e di apprendimento di gravità variabile durante l'infanzia e l'adolescenza, con disturbi della sfera comportamentale e sociale evidenziabili anche in età adulta.

Il mancato recupero del ritardo di crescita (catch-up growth) per parametri antropometrici come lunghezza e circonferenza cranica rappresenta il fattore predittivo più importante per un peggior outcome neurologico: la restrizione di crescita in lunghezza è tipica dello IUGR simmetrico, ossia quello che più spesso si associa all'insorgenza di sindromi congenite caratterizzate anche da deficit neurologico; una ridotta circonferenza cranica è invece spesso associata allo sviluppo di microcefalia, con conseguente anomalie dello sviluppo cerebrale.³⁰

Sembra che lo IUGR rappresenti un fattore protettivo nei confronti dello sviluppo di RDS, in quanto l'aumento dei livelli di cortisolemia indotto nel feto come risposta alle sfavorevoli condizioni endouterine potrebbe favorire la maturazione polmonare fetale.

Più precoce è l'avvento del processo patologico, più il feto sarà simmetricamente piccolo. In generale, il 5% dei feti singoli presenta elementi clinici che suggeriscono una restrizione della crescita intrauterina, mentre nelle gravidanze gemellari bigemine la quota sale al 20-30%.

Predire il ritardo di crescita: la flussimetria delle arterie uterine

Per valutare il corretto sviluppo placentare è stata introdotta nella pratica clinica la valutazione della flussimetria delle arterie uterine, normalmente eseguita a 22-24 settimane di gestazione. Come ogni onda flussimetrica arteriosa anche questa presenta una fase di maggiore flusso durante la contrazione ventricolare (flusso sistolico) ed una fase a velocità ridotta durante il rilasciamento ventricolare (flusso diastolico).

Se la placenta è correttamente sviluppata il flusso nelle arterie uterine risulterà adeguato anche durante la diastole, mentre, nel caso di insufficienza placentare, la differenza tra flusso sistolico e diastolico sarà maggiore e potrà essere presente il cosiddetto notch diastolico, ossia un'incisura del flusso riscontrabile all'inizio dell'onda diastolica.

Parametri ecografici

La circonferenza cranica, la circonferenza addominale (CA), il rapporto tra la circonferenza cranica/circonferenza addominale (CC/CA) e la lunghezza del femore (LF) sono le misurazioni più comunemente usate nella valutazione della crescita fetale. Il rapporto tra circonferenza cranica e circonferenza addominale (CC/CA) serve a definire lo sviluppo armonico del feto, a distinguere i difetti di crescita in simmetrici e asimmetrici, costituisce inoltre uno dei parametri nella valutazione delle patologie malformative a carico dell'estremo cefalico (microcefalia, idrocefalia, etc.).

Presupposto essenziale per la corretta valutazione dell'accrescimento fetale è la conoscenza dell'età gestazionale, dato che viene acquisito nella maniera più corretta con la biometria nel primo trimestre. Si ritiene pertanto che il primo esame di screening vada effettuato entro la quattordicesima settimana con la valutazione della lunghezza vertice sacro (LVS o CRL degli anglosassoni) fino alla undicesima settimana e con il diametro bi-parietale (DBP) e la lunghezza del femore (FL) nelle settimane successive. Rammentiamo che il CRL è il parametro che dà la

datazione più accurata possibile della gravidanza con un errore dell'ordine di pochi giorni in eccesso o in difetto, perché la lunghezza del feto aumenta molto rapidamente nelle prime settimane, con grandi differenze di valori tra una settimana e la successiva e un range di normalità molto piccolo per ciascuna settimana.

EUGR (Extra Uterin Growth Restriction)

Si definisce EUGR (Extrauterin Growth Restriction), il fenomeno sempre più frequente di ritardo di crescita extrauterina.

Con questo termine si intende il riscontro di parametri di crescita (peso, lunghezza, circonferenza cranica) minori o uguali al 10° percentile rispetto alla crescita intrauterina attesa, considerando l'età post-mestruale al momento della dimissione del neonato dal reparto di degenza (in genere un'età corretta uguale o di poco inferiore al termine). Si definisce EUGR severo quando i parametri auxologici riscontrati sono minori o uguali al 3° percentile.

L'incidenza di EUGR è tanto maggiore quanto minori sono l'età gestazionale e il peso alla nascita del neonato; fattori indirettamente associati alla restrizione di crescita extrauterina sono, oltre al sesso maschile, i parametri correlati alla durata e all'entità dell'impegno respiratorio e, più in generale, clinico che il neonato ha presentato nelle prime ore di vita (anemia, infezioni, displasia broncopolmonare, retinopatia del pretermine, ittero, dotto di Botallo pervio), così come lo IUGR e tutte le relative cause materne e fetali che l'hanno indotto (preclampsia, diabete gestazionale).

L'EUGR, pertanto, è particolarmente frequente in neonati nati ad un'età gestazionale sotto le 34 settimane, specialmente se VLBW o se interessati da IUGR.

Precoci e aggressive strategie nutrizionali e la prevenzione delle apnee e della setticemia in questi neonati a rischio potrebbero ridurre il verificarsi di tale problematica.³¹

La ridotta crescita extrauterina può aggravare il deficit accrescitivo di un neonato pretermine già piccolo per età gestazionale alla nascita, ma può anche far sì che un neonato di peso adeguato alla nascita per la propria età gestazionale presenti, ad un'età corretta vicina al termine, un peso inferiore al 10° centile per quella determinata età gestazionale. Il periodo postnatale è considerato una finestra temporale critica per la determinazione a lungo termine dello stato metabolico e della funzionalità d'organo in età prepuberale e adulta; per tale motivo l'EUGR potrebbe causare un ritardo di crescita in età infantile, un aumento del rischio cardiovascolare e di obesità in età prepuberale-adulta³² e, mediante meccanismi non ancora ben noti (probabilmente alterazioni della metilazione del DNA e dell'espressione genica), lo sviluppo di malattie croniche, quali l'ipertensione polmonare (PH)³³.

Data la correlazione molto stretta tra sviluppo auxologico ed outcome neurologico, per quanto riguarda l'outcome neurocognitivo del neonato SGA, alcuni studi sembrano evidenziare alterazioni intellettive e cognitive in età infantile, di entità estremamente variabile e molto spesso subcliniche.

CRESCITA FETALE DISCORDANTE NELLE GRAVIDANZE GEMELLARI

Nelle gravidanze gemellari, piccole differenze di peso alla nascita possono essere considerate fisiologiche, dovute a variazioni genetiche individuali, e non in grado di influire sullo sviluppo e sulla capacità di crescita del neonato nel lungo termine.³⁴

La discordanza di peso alla nascita, definita come una differenza del 15% tra i pesi dei due gemelli, è un frequente fenomeno che complica più del 15% delle gravidanze gemellari. Essa si associa ad un aumentato rischio di morbilità e mortalità perinatale e, in casi gravi, può anche impattare nel lungo termine sullo sviluppo auxologico, metabolico e neurologico del neonato.

E' stato ampiamente dimostrato come la discordanza di peso rappresenti un fattore di rischio per l'insorgenza di parto pretermine e, nei casi più gravi, di malformazioni fetali che possono condurre a morte intrauterina. Essa inoltre si associa a una maggiore incidenza di IUGR, infezioni fetali, parto di feto morto, pH arterioso ombelicale <7.10 , ricovero in unità di terapia intensiva, distress respiratorio e morte del neonato entro la prima settimana di vita.

Le linee guida del Royal College of Obstetricians and Gynecologists sulla gestione delle gravidanze gemellari monocoriali confermano che una discordanza della lunghezza vertice-sacro (CRL) $>10\%$ rappresenta un fattore di rischio di mortalità perinatale. Vi è una stretta correlazione tra la discrepanza nelle lunghezze vertice-sacro e la discordanza di peso alla nascita in nati da gravidanza multipla.³⁵

La discordanza di crescita in una gravidanza gemellare può essere predetta a qualsiasi età gestazionale tramite la misurazione delle circonferenze addominali dei due gemelli e il calcolo dell'ACR, ossia dell'Abdominal Circumference Ratio che, se $<$ di $0,93$ è indice di discordanza di crescita.³⁶

Gemelli gravemente discordanti per il peso (differenza tra i pesi $>25\%$) hanno un rischio di mortalità e morbilità perinatale significativamente più elevato rispetto ai gemelli mediamente discordanti (differenza tra i pesi del 5-25%) o concordanti (differenza di peso $<5\%$).³⁷

L'incidenza di gravidanze gemellari è notevolmente aumentata con l'impiego di tecniche di riproduzione assistita ed è stato evidenziato come l'outcome ostetrico nel caso di gravidanze gemellari indotte da tali tecniche sia meno ottimale rispetto a quello di gravidanze multiple

insorte spontaneamente. Inoltre il tasso di discordanza nelle gravidanze gemellari instauratesi dopo fecondazione assistita è significativamente più alto e potrebbe rappresentare esso stesso un fattore di rischio per lo sviluppo di complicanze perinatali e ostetriche.

La discordanza di crescita tra i gemelli sembra essere il risultato dell'interazione tra fattori genetici e uteroplacentari; essa si rende evidente generalmente nell'ultima metà della gravidanza, tuttavia vi è l'evidenza che il peso alla nascita possa essere dipendente dalle dimensioni embrionali iniziali.

A differenza della discordanza di crescita evidenziata nel terzo trimestre di gravidanza, la discordanza diagnosticata nel primo trimestre di gestazione ha alla base dei fattori non ancora ben noti: le differenze nella lunghezza vertice-sacro (CRL) potrebbero essere conseguenza del diverso potenziale genetico di ciascun feto nelle gravidanze dizigoti.

Una discordanza di crescita tra i gemelli non necessariamente corrisponde a una restrizione di crescita intrauterina di uno dei due feti e non necessariamente conduce alla nascita di un neonato piccolo per l'età gestazionale (SGA). Infatti, uno o entrambi i gemelli discordanti possono essere SGA e, in almeno i 2/3 delle gravidanze gemellari discordanti, il gemello più piccolo presenta un peso inferiore al 10° percentile.

Coppie di gemelli discordanti in cui il gemello più piccolo sia anche SGA presentano un più alto rischio, soprattutto per il gemello di peso minore, di morbilità (enterocolite necrotizzante, policitemia, ipoglicemia) e mortalità perinatale, sebbene l'insorgenza di distress respiratorio (RDS) venga riscontrata più frequentemente nel gemello di peso maggiore.^{34,38}

L'eziologia della discordanza di crescita nei gemelli è stata ampiamente studiata: nei gemelli monocoriali tale differenza si pensa possa essere attribuita ad una distribuzione non bilanciata tra i due feti della massa placentare e ad anomalie nell'inserzione del funicolo³⁹; in alcuni casi alla base può essere evidenziata una TTTS o la presenza di malformazioni fetali. Nelle gravidanze bicoriali la causa della discordanza di crescita sarebbe invece da attribuire ad un potenziale genetico di crescita differente nei due feti.

Un basso incremento di peso nella madre, l'età materna avanzata, l'ipertensione gestazionale, il fumo di sigaretta, l'inserzione velamentosa del funicolo e l'induzione della gravidanza sono tutti fattori in grado di aumentare il rischio di discordanza di crescita fetale nelle gravidanze multiple.

Anche la carenza di specifici fattori ormonali può essere responsabile della discordanza di crescita tra i feti di una gravidanza multipla: gli Insulin-like Growth Factors (IGF) sono coinvolti nella regolazione del processo di crescita, sia intrauterino che post-natale, e una

carezza di IGF-1, in particolare, potrebbe pertanto essere alla base dello sviluppo di un difetto di crescita in uno o entrambi i feti.⁴⁰ Nel gemello di basso peso LBW (<2550 g) è stata inoltre riscontrata un'aumentata produzione di IGFBP-1, responsabile di un elevato turnover osseo e di una riduzione complessiva della massa ossea.⁴¹

Ricordiamo che in gravidanze monocoriali con discordanza di crescita le concentrazioni plasmatiche della leptina fetale risultano più basse nel gemello con restrizione di crescita intrauterina e di peso minore, rispetto che nel gemello con crescita appropriata, quindi anche questa proteina funge da marker, in quanto correlata positivamente con lo sviluppo e la crescita del feto.⁴²

La maggior parte degli studi sull'outcome in gemelli di peso discordante sono limitati alla valutazione degli outcomes neonatali; tuttavia da altri studi è emerso che la discordanza di crescita in gemelli pretermine e SGA impatta significativamente sull'accrescimento ponderale e staturale durante l'infanzia e sulla sfera comportamentale e cognitiva del bambino.⁴³

In particolare alcuni studi hanno dimostrato che il gemello di peso minore presenta un più basso QI verbale e di performance all'età di 3-5 anni rispetto al gemello di peso maggiore, quindi un ritardo nello sviluppo sia mentale che motorio.

Il gemello di peso maggiore, al contrario, sembra avere una peggiore condotta comportamentale, indole più aggressiva e maggiore incidenza di A.D.H.D. (Disturbo da Deficit di Attenzione/Iperattività) rispetto al gemello di peso minore, probabilmente per aver sviluppato una maggiore prestanza fisica che l'ha condotto a confrontarsi in modo aggressivo con il co-gemello più piccolo.⁴⁴

Il differente stato di salute dei due gemelli porterebbe le madri a investire più tempo e a dedicare maggiori attenzioni al gemello più piccolo e più fragile, incrementando la probabilità per il gemello di peso maggiore di sviluppare problemi comportamentali e della vita di relazione.

OUTCOME NEUROLOGICO NEI GEMELLI

Prima di focalizzare la nostra attenzione sull'outcome neurologico nei gemelli, è importante sottolineare come un'alterazione dello sviluppo neurologico rappresenti soltanto la punta di un iceberg di anomalie cliniche di variabile gravità che possono interessare i nati da gravidanze gemellari, soprattutto nel caso di gravidanze monozigoti e monocoriali.¹³

Gemellarità e paralisi cerebrale infantile

La paralisi cerebrale infantile (PCI) è un disturbo persistente, ma non progressivo, della postura e del movimento, dovuto ad alterazioni della funzione cerebrale infantile prima che il sistema nervoso centrale abbia completato il suo sviluppo.

Le lesioni cerebrali che ne sono responsabili possono essere molteplici: esse possono essere esito di alterazioni dello sviluppo cerebrale, come la lissencefalia, o di infarti di aree più o meno estese, in seguito ad esempio all'occlusione dell'arteria cerebrale media, o di traumi che si verificano nell'immediatezza del parto. La lesione, affinché possa essere causa di PCI, deve essere considerata statica, a prescindere dalla sua eziologia, e deve avere un impatto sulle capacità motorie del paziente.⁴⁵

L'eziologia della paralisi cerebrale infantile è molto varia. In particolare possiamo distinguere molteplici fattori di rischio, che possiamo classificare in prenatali, perinatali e postnatali.

- Fattori prenatali: infezioni materne in gravidanza, farmaci e tossici assunti dalla madre durante la gestazione, preeclampsia, fattori genetici e anomalie cromosomiche condizioni che portano a sofferenza fetale, eventi ischemici intrauterini, emorragia intraventricolare (IVH), emorragia della matrice germinativa (GMH), emorragia intraventricolare-periventricolare (PIVH), cisti periventricolari.
- Fattori perinatali: parto pretermine, encefalopatia ipossico ischemica, parto difficoltoso
- Fattori postnatali: basso peso alla nascita (nel 35-40% dei casi), ittero grave, meningoencefaliti, stato di male epilettico, traumi cranici.

La gemellarità è ormai da lungo tempo considerata un importante fattore di rischio per lo sviluppo di paralisi cerebrale infantile (PCI); tale patologia risulta infatti dalle cinque alle dieci volte più frequente nei nati da gravidanze multiple rispetto che nei bambini nati da gravidanze singole.

Si registra un aumento della prevalenza di paralisi cerebrale infantile con il diminuire del peso alla nascita (in particolare nei neonati LBW <2500 g) e, per i gemelli, un importante fattore di

rischio è rappresentato dalla TTTS, con incidenza di PCI molto elevata nel gemello sopravvissuto (rischio di 1:10).

In generale si registra un aumento di incidenza di PCI nei nati da gravidanze gemellari in cui uno dei gemelli va incontro a morte fetale endouterina (soprattutto se essa si verifica nel primo trimestre di gestazione) o a morte più tardiva, in età post-natale o durante l'infanzia.

Il perfezionamento delle tecniche ultrasonografiche in gravidanza ha permesso in questi ultimi anni di diagnosticare svariati casi del fenomeno del “vanishing twin”, in cui all'inizio della gravidanza sono visibili più feti in una o più camere gestazionali, ma successivamente uno di questi scompare, venendo riassorbito dal co-gemello e dal tessuto placentare. La non rara incidenza di questo fenomeno, in associazione al fatto che anche i gemelli con peso alla nascita nella norma presentano una più alta incidenza di PCI rispetto ai nati da gravidanze singole, porta ad avvalorare l'ipotesi che i casi di paralisi cerebrale infantile in bambini nati da gravidanze apparentemente non gemellari siano in realtà da attribuire alla precoce perdita del co-gemello nelle epoche iniziali della gravidanza.

Nel gemello sopravvissuto affetto da PCI, mediante tecniche di neuroimaging, sono state descritte molteplici anomalie nello sviluppo cerebrale, quali l'encefalomalacia multicistica, aree infartuate nella sostanza bianca, atrofia corticale con ventricolomegalia, idranencefalia, oloprosencefalia, eterotopia periventricolare e polimicrogiria.¹¹

Lo sviluppo di una specifica anomalia piuttosto che di un'altra pare essere associata con il timing di insorgenza del danno cerebrale: se questo si sviluppa precocemente, nel secondo trimestre di gravidanza, si determinano alterazioni della migrazione neuronale, con conseguente polimicrogiria; se invece l'insulto cerebrale si verifica nel terzo trimestre esso esiterà in encefalomalacia multicistica o infarti nella sostanza bianca cerebrale.

Il danno cerebrale in molti casi sarebbe da attribuire a problematiche relative al parto in associazione ad una severa prematurità, condizioni predisponenti allo sviluppo di leucomalacia periventricolare ed emorragia intraventricolare.

In base al quadro clinico le PCI possono essere distinte in quattro categorie principali: forme spastiche, atetosiche, atassiche e miste.

Le forme spastiche sono quelle più frequenti, dovute al coinvolgimento del motoneurone superiore, e si verificano in circa il 70% dei casi; possono condurre a quadri di emiplegia, paraplegia, tetraplegia o diplegia. Gli arti colpiti mostrano di solito un deficit di accrescimento,

con ipereflessia tendinea profonda, ipertono muscolare, diminuzione di forza e tendenza alle contratture.

Le sindromi atetosiche o discinetiche, derivanti da un danno dei gangli della base, rappresentano un 20% dei casi di PCI. I movimenti involontari, afinalistici, lenti e contorti, tipici della forma atetosica, possono interessare gli arti o le parti prossimali degli arti; nel caso in cui si abbiano movimenti distali improvvisi e a scatto si parlerà di forma coreica

Le sindromi atassiche sono le più rare, presentandosi in circa il 10% dei casi: esse sono dovute ad alterazioni del cervelletto o delle vie cerebellari e comportano perdita di coordinazione, andatura atassica e difficoltà nell'eseguire movimenti rapidi e precisi.

Le forme miste sono relativamente frequenti e costituite spesso da quadri misti di spasticità e atetosi o, meno frequentemente, di atassia e atetosi.

Oltre ad un aumento della prevalenza di PCI, nei gemelli si possono avere anche altri disturbi neurologici talora anche molto invalidanti, quali lo sviluppo di epilessia, specie tra i gemelli MZ, alterazioni della chiusura del tubo neurale, sviluppo di idrocefalo.

Patogenesi del danno neurologico nei gemelli monozigoti

E' stato ipotizzato che alla base dello sviluppo di anomalie cerebrali nel gemello sopravvissuto alla morte intrauterina del co-gemello vi sia il passaggio, dal gemello morto a quello vivo, tramite le anastomosi placentari, di sostanze ad attività tromboplastinica, in grado di attivare processi di coagulazione intravascolare disseminata.

Tale ipotesi è supportata dal riscontro, nel gemello vivo, di alterazioni vascolari multiple a carico di vari organi, quali encefalomalacia multicistica, necrosi corticale renale, infarti epatici e splenici.

Un' ipotesi alternativa sostiene che una probabile causa del danno neurologico nel gemello sopravvissuto sia da attribuire a squilibri emodinamici e complicanze di natura ischemica che si verificano in concomitanza di TTTS.

Bisogna sottolineare come un aumento del rischio di paralisi cerebrale infantile si registri non solo nei nati da gravidanze gemellari in cui uno dei gemelli va incontro a morte intrauterina, ma anche quando la morte del co-gemello si verifica durante l'infanzia o non si verifica affatto. Una spiegazione di tale fenomeno potrebbe risiedere nel fatto che la placentazione monocoriale possa rappresentare un fattore di rischio a sé stante per l'insorgenza di lesioni nella sostanza bianca cerebrale.

ANOMALIE E DISABILITÀ NON NEUROLOGICHE ASSOCIATE ALLA CONDIZIONE DI GEMELLARITÀ

Le malformazioni e le disabilità che possono essere attribuite alla condizione di gemellarità e in particolare alla placentazione moncoriale sono molteplici.

Nella gravidanza dizigotica il rischio per ciascun feto è pari a quello della gravidanza singola (2-4%), al contrario, nella monozigotica, tale rischio sale al 10%, soprattutto in caso di monocorialità e monoamnionicità.⁴⁶

La morte intrauterina di un feto può essere associata non soltanto ad alterazioni dello sviluppo neurologico nel co-gemello sopravvivente, ma ad una varietà molto ampia di malformazioni congenite:

- Agenesia di uno o entrambi i reni (Sindrome di Potter)
- Atresia intestinale, anale ed esofagea
- Aplasia della cute
- Cardiopatie congenite (stenosi aortica, coartazione aortica, stenosi polmonare)
- Difetti della parete addominale
- Difetti in riduzione degli arti
- Sindrome VACTERL (anomalie vertebrali, atresia anale, alterazioni cardiovascolari, fistola tracheo-esofagea, atresia esofagea, anomalie renali, difetti articolari e degli arti)
- Deformazioni meccaniche (compressione su un feto per ridotte dimensioni della camera gestazionale)
- Anomalie cromosomiche, quali la Sindrome di Turner e la Sindrome di Down (ricordiamo che in caso di gravidanza gemellare la diagnosi di Sindrome di Down può essere fatta solo tramite translucenza nucale e non tramite test biochimici).

E' probabile che tali anomalie siano il risultato di processi ischemici dovuti a squilibri emodinamici molto frequenti nei gemelli monozigoti, in particolare se affetti da TTTS, e secondari, in taluni casi, alla morte intrauterina del co-gemello.

OBIETTIVI, PAZIENTI E METODI

Abbiamo incluso nel nostro studio di tipo retrospettivo tutte le gravidanze bigemellari che, nell'arco di tempo compreso da Gennaio 2012 a Dicembre 2014, siano esitate nel parto di due gemelli nati vivi e con discordanza di peso alla nascita $\geq 15\%$.

La discordanza di peso è stata calcolata mediante la formula:

$$\frac{\text{Peso del gemello più grande} - \text{Peso del gemello più piccolo}}{\text{Peso del gemello più grande}} \times 100$$

Il numero totale di gravidanze bigemellari portate a termine in questi tre anni di riferimento è pari a 191, di queste 55 hanno portato alla nascita di due neonati aventi peso discordante.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare in che misura la discordanza di peso alla nascita, la corionicità e l'età gestazionale possano essere correlate ad una maggiore incidenza di morbilità maggiore e mortalità perinatale, identificando i cosiddetti determinanti precoci di outcome neonatale e valutando quale, tra questi, abbia un'influenza maggiore nel condizionare la prognosi.

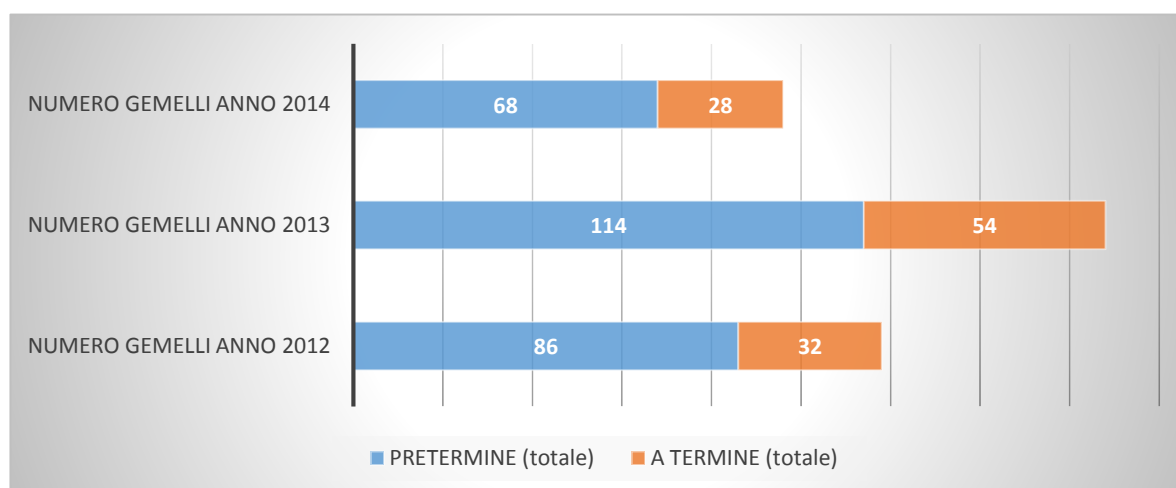


FIGURA 10: Numero totale delle gravidanze gemellari nell'intervallo di tempo di riferimento (2012-2014) e proporzione tra i neonati nati a termine e quelli nati pretermine

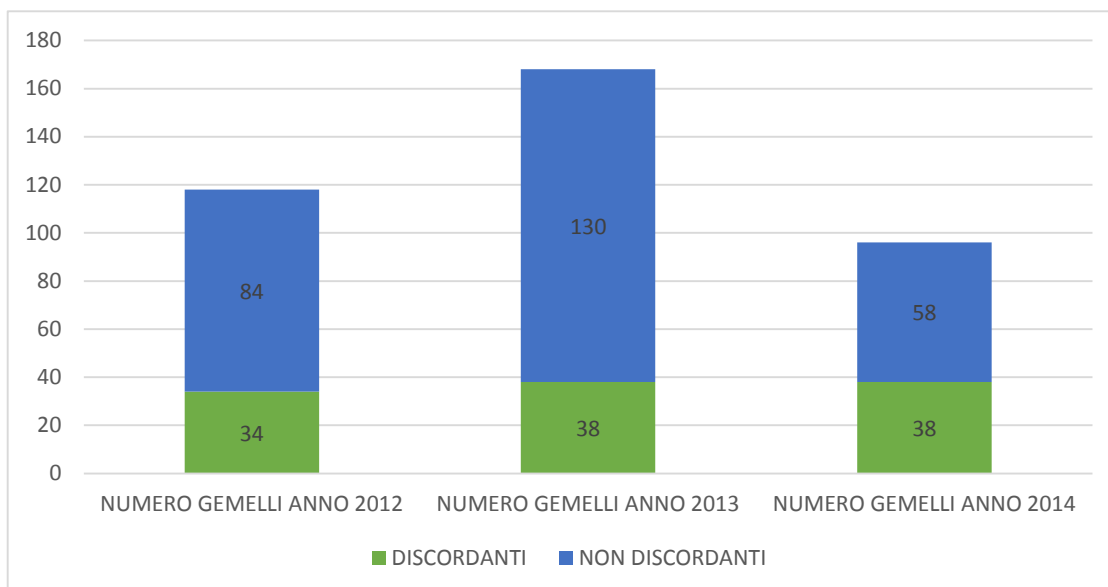


FIGURA 11: Numero dei gemelli con discordanza di peso alla nascita per ogni anno di riferimento

Di tutte le gravidanze gemellari portate a termine nei tre anni di riferimento il 29% (55 gravidanze in tutto) ha portato alla nascita di due gemelli di peso discordante (Figura 10).

Il massimo valore percentuale di discordanza tra pesi alla nascita riscontrato nell'ambito del nostro campione è del 47%, con una media delle percentuali di discordanza pari a circa il 22,32%, senza differenze significative in relazione alla corionicità.

Valutando l'andamento delle percentuali di discordanza relative a ciascuna coppia di gemelli (Figura 11) si può notare come la maggioranza delle coppie prese in esame non presenti un grado di discordanza elevato ($\% \text{ discordanza} \leq 20$).

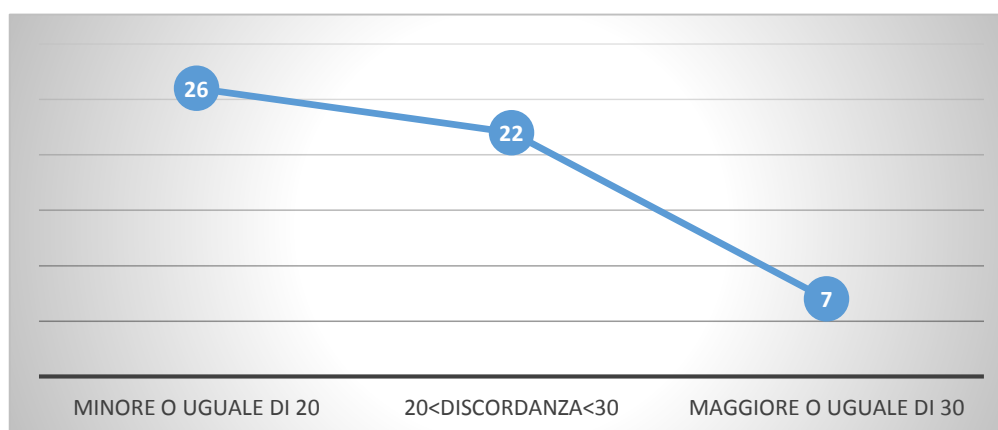


FIGURA 12: Numero di coppie di gemelli per ciascun intervallo di discordanza

La coorte di pazienti presa in esame dal nostro studio è costituita da 110 gemelli, dei quali 78 pretermine (il 71%), ossia nati prima della 37° settimana di gestazione, e 32 a termine (il restante 29%).

I pretermine a loro volta possono essere classificati in nati prima della 32° settimana di gestazione, i cosiddetti very preterm (nel nostro studio 4 coppie) e nati tra (32+1) e (36+6) settimane, i cosiddetti moderate e late preterm (35 coppie nel nostro campione).

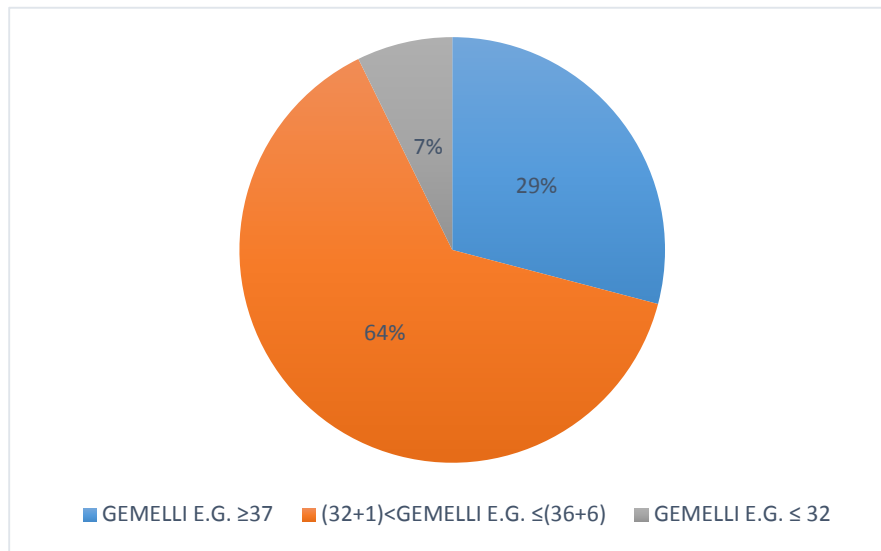


FIGURA 13: Gemelli suddivisi per età gestazionale. Si può notare come più del 70% di questi sia nato prematuramente, prima della 37° settimana di gestazione

Nell'ambito della nostra popolazione di riferimento abbiamo valutato l'outcome neonatale, inteso come l'incidenza di mortalità e morbidità severa nel primo mese di vita, sulla base di tre parametri:

- ❖ Corionicità (monocoriali vs bicoriali)
- ❖ Età gestazionale (pretermine vs a termine)
- ❖ Entità della discordanza di peso alla nascita (< 20% vs \geq 20%)

La tabella 1 mostra le caratteristiche generali della nostra popolazione sulla base della distinzione tra gemelli monocoriali (11 coppie) e bicoriali (44 coppie).

TABELLA 1 Caratteristiche generali della nostra popolazione

	Totale gemelli (n=110)	Bicoriali (n=88)	Monocoriali (n=22)	p
Media EG (settimane)	35,44	35,63	34,7	0,06
Incidenza di TC	104	82	22	0,43
Pretermine	78	58	20	0,57
Media Peso (g)	2180,39	2237,32	1952,63	0,03
Media percentuale discordanza	22,32 %	22,35 %	22,22 %	0,95
Media durata degenza (giorni)	18,82	15,54	21,9	0,045
Incidenza SGA (<10°)	104	84	20	0,23

I valori della p sono stati calcolati con *il Likelihood Ratio Chi-squared test* o con il *Test T di Student* per variabili indipendenti per paragonare le medie.

Per indicare la significatività statistica, abbiamo considerato un valore della $p < 0,05$, con intervalli di confidenza (IC) al 95%.

Pertanto, come evidenziato nella tabella 1, soltanto le differenze tra le medie del peso alla nascita ($p=0,03$) e della durata della degenza ($p=0,045$) in gemelli monocoriali e bicoriali sembrano presentare una significatività statistica.

Abbiamo considerato come SGA (Small for Gestational Age) i gemelli con peso alla nascita inferiore al 10° percentile per l'età gestazionale e il sesso.

Il 95% della nostra popolazione di riferimento è SGA (*figura 14*), senza significative differenze dell'incidenza di SGA in relazione alla corionicità (95% dei bicoriali vs 91% dei monocoriali, $p=0,2$).

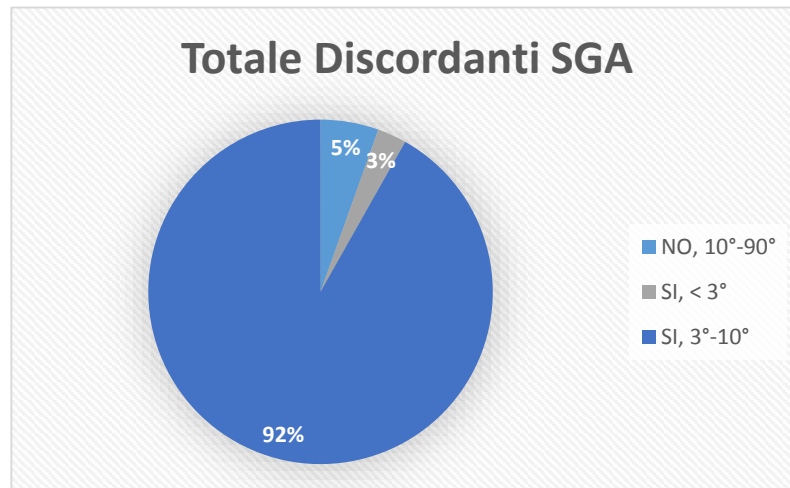


FIGURA 14: Incidenza di SGA nella nostra popolazione

I parametri di outcome presi in considerazione sono stati:

1. La restrizione di crescita extrauterina (EUGR), valutando, mediante l'uso delle carte antropometriche di Bertino, tre parametri auxologici, peso, lunghezza e circonferenza cranica, alla nascita e al momento della dimissione del neonato dal reparto di degenza (in genere con un'età corretta uguale o di poco inferiore al termine).
2. Incidenza di basso peso alla nascita e prevalenza di neonati SGA.
3. Distress respiratorio (RDS), definito come condizione di insufficienza respiratoria tale da necessitare di supporto ventilatorio (nCPAP) o somministrazione di ossigeno nelle prime 24 ore di vita.
4. Sepsi neonatale, diagnosticata in neonati con esami colturali positivi e segni clinici di infezione in atto.
5. Pervietà del dotto di Botallo (PDA) emodinamicamente significativa.
6. Ittero neonatale, di gravità tale da richiedere fototerapia.
7. Ipocalcemia, ossia $\text{Ca ionizzato} < 1,1 \text{ mmol/L}$ e quindi tale da richiedere somministrazione di calcio gluconato 10%.

8. Anemia, con valori di Hb talmente bassi da richiedere trasfusioni di emazie concentrate leucodeplete o più cicli di EPO.
9. Retinopatia del pretermine (ROP).
10. Livelli ematici di cortisolemia, di IGF-1 e di 25-OH vitamina D.
11. Alterazioni degli ormoni tiroidei (ipotiroidismo, T4 < 1ng/dl) e TSH elevato ($\geq 5\mu\text{U/ml}$).
12. Ipogammaglobulinemia.
13. Malformazioni, soprattutto genitourinarie e cardiache.
14. Lesioni del SNC, diagnosticate mediante ecografie transfontanelle seriali che vengono eseguite in tutti i nati pretermine.
15. Durata degenza.

Abbiamo valutato l'incidenza delle suddette complicanze confrontando tra loro gruppi di pazienti classificati in relazione alla:

- ❖ Differenza di peso alla nascita: la media dei pesi dei gemelli inclusi nel nostro studio è pari a 2180 g, con un peso medio dei neonati più grandi di 2450 g e un peso medio dei più piccoli di 1911 g.
- ❖ Entità della discordanza di peso alla nascita tra i gemelli di ogni singola coppia ($\geq 20\%$ vs $< 20\%$).
- ❖ Corionicità (bicoriali vs monocoriali);
- ❖ Corionicità associata al differente peso alla nascita:
 - Gemelli bicoriali di peso maggiore di ciascuna coppia vs gemelli bicoriali di peso minore di ciascuna coppia;
 - Gemelli monocoriali di peso maggiore di ciascuna coppia vs gemelli monocoriali di peso minore di ciascuna coppia;
- ❖ Corionicità valutata insieme all'età gestazionale e al peso alla nascita:
 - Nei bicoriali a termine, così come anche nei bicoriali pretermine, abbiamo confrontato tra loro i gemelli di peso maggiore di ciascuna coppia e i gemelli di peso minore di ciascuna coppia;
 - Nei monocoriali pretermine abbiamo confrontato i gemelli di peso maggiore con i gemelli di peso minore;

- ❖ In ultima istanza abbiamo poi confrontato il gruppo di gemelli bicoriali pretermine con peso alla nascita maggiore rispetto a quello del cogramello con il gruppo di gemelli bicoriali a termine con peso alla nascita minore di quello del cogramello.

RISULTATI E CONSIDERAZIONI

Discordanza di peso alla nascita

Nello studio da noi condotto non si evidenziano particolari differenze significative in termini di morbilità neonatale tra il gemello di peso maggiore e quello di peso minore di ogni coppia. Fanno eccezione l'incidenza di EUGR (sia per il peso, che per la lunghezza che per la circonferenza cranica) e di elevati valori di TSH ($> 5 \mu\text{U/ml}$), parametri riscontrati in modo significativamente più frequente ($p < 0,05$) tra i gemelli di peso minore.

TABELLA 2: *Gemelli di Peso maggiore vs gemelli di Peso minore*

	<i>Gemelli P ></i> (valore assoluto)	<i>Gemelli P <</i> (valore assoluto)	<i>p</i>
SGA $<3^\circ$	0	3	0,08
SGA $3^\circ-10^\circ$	51	50	0,92
EUGR PESO $<3^\circ$	3	31	0,000002
EUGR PESO $3^\circ-10^\circ$	16	17	0,86
EUGR LUNGHEZZA $<3^\circ$	2	9	0,03
EUGR LUNGHEZZA $3^\circ-10^\circ$	2	10	0,02
EUGR CC	3	11	0,03
RDS	18	16	0,73
SEPSI NEONATALE	0	1	0,32
PDA	3	5	0,48
ENCEFALOPATIA I.I.	0	0	\
ITTERO	6	9	0,44
IPOCALCEMIA	14	11	0,55
ANEMIA	7	4	0,37
ROP	0	1	0,32
TSH ELEVATO ($> 5 \mu\text{U/ml}$)	1	8	0,02
FT4 ($< 1 \text{ ng/dl}$)	1	1	1

Per quanto riguarda l'RDS, contrariamente a quanto osservato in letteratura (studi precedenti hanno dimostrato una maggiore frequenza di distress respiratorio nel gemello di peso maggiore, in particolare se di sesso maschile e MC^{47,48}), non si sono evidenziate differenze significative nell'incidenza di tale patologia che, nel nostro campione colpisce, possiamo dire in egual misura, il gruppo di gemelli di peso maggiore e quello dei gemelli di peso minore. Ciò è probabilmente da attribuire al fatto che le coppie di gemelli bicoriali incluse nel nostro studio sono in numero decisamente maggiore rispetto a quelle dei gemelli monocoriali.

Il sesso maschile, come confermato anche nella nostra casistica, rappresenta invece un fattore di rischio per lo sviluppo di RDS: gli estrogeni favoriscono infatti l'alveologenesi e la produzione di surfactante, al contrario gli androgeni, così come anche l'ormone antimulleriano, agiscono come modulatori epigenetici negativi della sintesi di surfactante.⁴⁹

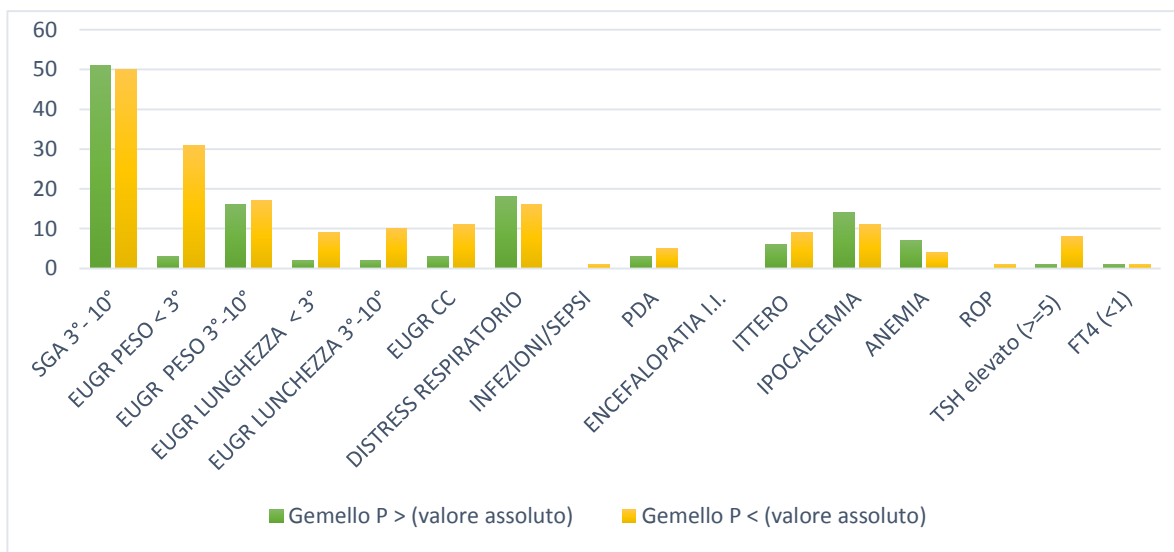


FIGURA 15: Differenze nell'outcome neonatale tra il gemello di peso maggiore e quello di peso minore di ogni coppia

***Entità della discordanza di peso alla nascita per ogni singola coppia di gemelli
($\geq 20\%$ vs $< 20\%$)***

Nel nostro studio sono state incluse tutte quelle gravidanze gemellari che hanno portato alla nascita di due gemelli con pesi alla nascita discordanti di almeno il 15%.

La massima percentuale di discordanza evidenziata è stata del 47%, con una media del 22,3 %, senza significative differenze in relazione alla corionicità ($p = 0,95$).

Dei 110 gemelli oggetto del nostro studio, 52 presentano una discordanza di peso alla nascita $< 20\%$, i restanti 58 presentano invece una percentuale di discordanza $\geq 20\%$.

Valutando l'incidenza di morbidità neonatale maggiore (considerando sempre i medesimi parametri di outcome neonatale) in questi due gruppi di pazienti possiamo notare come si osservino delle differenze statisticamente significative nell'incidenza di RDS ($p = 0,015$) e di ittero neonatale ($p = 0,03$), complicanze che risultano più frequenti tra quelle coppie di gemelli che presentano una discordanza di peso alla nascita $\geq 20\%$.

TABELLA 3: Entità della discordanza di peso alla nascita ed outcome neonatale

	<i>Coppie con discordanza $< 20\%$ (n gemelli=52)</i>	<i>Coppie con discordanza $\geq 20\%$ (n gemelli=58)</i>	<i>p</i>
<i>RDS</i>	9 (17%)	25 (43%)	0,015
<i>ITTERO</i>	3 (6%)	12 (21%)	0,03

TABELLA 4: Caratteristiche della popolazione dei gemelli con RDS

	<i>Gemelli con RDS con discordanza < 20% (n=9)</i>	<i>Gemelli con RDS con discordanza ≥ 20% (n=25)</i>
MC	2	8
BC	7	17
A termine	0	0
Pretermine	9	25
Gemelli di Peso < della coppia	4	12
Gemelli di Peso > della coppia	5	13
Media dei pesi alla nascita	1871 g	1680 g
Media dei pesi alla dimissione	2447 g	2326 g
Differenza tra la media dei pesi alla dimissione e alla nascita	576 g	646 g
Maschi	5	12
Femmine	4	13

Possiamo notare come, nella nostra casistica, tutti i gemelli che abbiano presentato distress respiratorio, a prescindere dall'entità della discordanza di peso alla nascita rispetto al cogemello, siano nati pretermine ($p < 0,05$). L'età gestazionale sembra quindi essere il fattore di rischio maggiormente influente sull'incidenza di RDS.

TABELLA 5: Caratteristiche della popolazione dei gemelli con ittero

	Gemelli con ittero con discordanza < 20% (n=3)	Gemelli con ittero con discordanza ≥ 20 % (n=12)
MC	0	4
BC	3	8
A termine	0	0
Pretermine	3	12
Gemelli di Peso < della coppia	2	10
Gemelli di Peso > della coppia	1	2
Media dei pesi alla nascita	1851 g	1546 g
Media dei pesi alla dimissione	2365 g	2169 g
Differenza tra la media dei pesi alla dimissione e alla nascita	514 g	623 g
Maschi	0	5
Femmine	3	7

Per quanto riguarda l'incidenza di ittero neonatale, possiamo notare come tutti i gemelli che abbiano presentato ittero siano nati pretermine e come la maggior parte di questi appartenga al gruppo costituito dai gemelli di peso minore della relativa coppia.

Applicando il *Likelihood Ratio Chi-squared* test possiamo notare come la differenza tra il numero di gemelli pretermine e il numero di gemelli a termine risulti significativa dal punto di vista statistico per il gruppo di gemelli con discordanza $\geq 20\%$ ($p=0,02$), ma non per il gruppo di gemelli con discordanza minore del 20% ($p=0,3$). Analogamente, la differenza tra il numero di gemelli di peso minore della relativa coppia e il numero di gemelli di peso maggiore risulta significativa solo nel gruppo di gemelli con discordanza $\geq 20\%$ ($p=0,02$), ma non nel gruppo di gemelli con discordanza $< 20\%$ ($p=0,5$).

Corionicità

Abbiamo valutato l'incidenza di complicanze neonatali precoci nei gemelli bicoriali e monocoriali e, a differenza di quanto riscontrato in letteratura, nel nostro campione, probabilmente dato anche l'esiguo numero di gemelli monocoriali (11 coppie) rispetto al numero di gemelli bicoriali (44 coppie), non si sono evidenziate particolari differenze significative in termini di morbidità neonatale. Tuttavia la durata media della degenza è risultata significativamente più elevata nei gemelli monocoriali rispetto che nei bicoriali (15 giorni nei BC, 21 giorni nei MC, $p < 0,05$), così come anche l'incidenza di basso peso alla nascita (2237 g nei BC vs 1952 g nei MC, $p = 0,03$).

La monocorionicità si associa inoltre ad un più elevato tasso di discordanza di peso alla nascita ($> 20\%$), rispetto alla bicorionicità.

Nessuna delle coppie di gemelli da noi prese in esame ha presentato una TRAP o una TTTS, complicanza, quest'ultima, relativamente frequente nelle gravidanze gemellari monocoriali; essa rappresenta uno dei più importanti fattori di rischio per lo sviluppo di complicanze cardiologiche e neurologiche.

Tra i gemelli monocoriali si è evidenziato, sebbene in modo non statisticamente significativo, un trend di maggior rischio di sviluppo di RDS rispetto che nei gemelli bicoriali (rispettivamente, 45% vs 27%, $p = 0,2$).

L'incidenza nello sviluppo di EUGR per i parametri auxologici di lunghezza e circonferenza cranica si è rivelata decisamente più alta tra i gemelli monocoriali rispetto che nei bicoriali, così come anche l'insorgenza di ipocalcemia, definita da dei valori di Ca ionizzato $< 1,1$ mmol/L e quindi tali da richiedere somministrazione di calcio gluconato 10% (tabella 4).

TABELLA 6: Differenze statisticamente significative nell'outcome neonatale tra gemelli BC e MC

	BICORIALI (n = 88)	MOCORIALI (n=22)	p
EUGR LUNGHEZZA $< 3^\circ$	5 (6%)	6 (27%)	0,004
EUGR CC	8 (9%)	6 (27%)	0,003
IPOCALCEMIA	25 (28,4 %)	1 (4,5%)	0,004

All'interno del gruppo dei gemelli monocoriali e dei bicoriali abbiamo poi valutato le eventuali differenze riscontrate nell'incidenza di morbidità neonatale in relazione al peso alla nascita (essere il cogramello di peso maggiore o il cogramello di peso minore).

Le uniche differenze registrate, tra il gemello di peso maggiore e quello di peso minore, che risultano significative dal punto di vista statistico ($p < 0,05$) riguardano, nei gemelli bicoriali, lo sviluppo di EUGR $< 3^{\circ}$ centile per tutti e tre i parametri auxologici di riferimento (peso, lunghezza e circonferenza cranica) e, anche nei monocoriali, lo sviluppo di una restrizione di crescita extrauterina per la lunghezza (EUGR lunghezza, $p = 0,02$).

Corionicità, età gestazionale e peso alla nascita

La prematurità, valutata in particolare nel gruppo dei gemelli bicoriali (i gemelli monocoriali, esclusa una coppia, sono nati tutti pretermine), rappresenta un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di distress respiratorio ($p=0,0004$), ittero neonatale ($p=0,02$) e anemia ($p=0,03$), oltre che per una restrizione di crescita extrauterina (EUGR) per la circonferenza cranica ($p=0,04$).

Nei bicoriali nati a termine ($n=30$), così come anche nei bicoriali pretermine ($n=58$), abbiamo confrontato tra loro il gemello di peso maggiore con quello di peso minore di ciascuna coppia. Anche nei monocoriali pretermine abbiamo confrontato i gemelli di peso maggiore con i gemelli di peso minore.

Le uniche differenze significative dal punto di vista statistico hanno riguardato, anche in questi casi, l'incidenza di EUGR < 3° centile per il peso, la lunghezza e la circonferenza cranica, ovviamente con una maggiore frequenza di tale complicanza tra i gemelli di peso minore.

In ultima istanza, abbiamo poi paragonato il gruppo di gemelli bicoriali pretermine con peso alla nascita maggiore rispetto a quello del cogramello con il gruppo di gemelli bicoriali a termine con peso alla nascita minore di quello del cogramello.

Da questa valutazione è emerso come l'incidenza di SGA < 3° centile e di EUGR per il peso < 3° centile risultino più frequenti nel gruppo costituito dai gemelli bicoriali a termine di peso minore.

I neonati SGA < 3° centile rappresentano il 20% dei gemelli bicoriali a termine di peso minore, al contrario l'incidenza di SGA < 3° centile è pari a zero nel gruppo dei gemelli bicoriali pretermine di peso maggiore ($p=0,016$); per quanto riguarda lo sviluppo di EUGR < 3° centile, questo interessa circa il 67% dei gemelli bicoriali a termine di peso minore e nessun gemello appartenente al gruppo dei bicoriali pretermine di peso maggiore.

Al contrario, l'incidenza di distress respiratorio si è dimostrata decisamente più elevata tra i gemelli bicoriali pretermine di peso maggiore (interessa il 45% di questi), non interessando nessun neonato appartenente al gruppo dei gemelli bicoriali a termine di peso minore.

Questa ultima differenza riscontrata è concordante con quanto affermato in letteratura: è ormai assodato che lo sviluppo di distress respiratorio sia correlato con la prematurità e causato da

una carenza di surfactante polmonare alla nascita (in particolare delle cosiddette SP-A e SP-B, ossia delle proteine del surfactante A e B).

E' altresì stato dimostrato che anche la presenza di svariati polimorfismi genetici a carico delle proteine del surfactante A, B, C e D e di altri geni coinvolti nella loro trascrizione sia associata allo sviluppo di RDS.⁵⁰

In letteratura, il sesso maschile e il presentare un peso maggiore alla nascita rispetto al cogemello rappresentano dei fattori di rischio per lo sviluppo di RDS (ciò, tuttavia, non è emerso dal nostro studio).

Anche la pervietà del dotto di Botallo (PDA) rappresenta un fattore di rischio per lo sviluppo di distress respiratorio.

Nella nostra casistica l'incidenza di PDA alla nascita è risultata, come atteso, più elevata tra i gemelli pretermine piuttosto che tra quelli a termine (sia per i monocoriali che per i bicoriali); tale condizione, portando all'instaurarsi di uno shunt sx-dx, conduce ad una condizione di iperafflusso polmonare, con conseguente danno all'epitelio alveolare e, in particolare, agli pneumociti di tipo 2 produttori di surfactante.

TABELLA 7: Differenze significative nell'outcome neonatale tra gemelli BC a termine di peso minore e gemelli BC pretermine di peso maggiore

	BC A TERMINE DI PESO < (%)	BC PRETERMINE DI PESO > (%)	p
SGA < 3°	20 %	0 %	0,02
EUGR PESO < 3°	67 %	0 %	0,000001
DISTRESS RESPIRATORIO	0 %	45 %	0,01

Ruolo dell'asse GH-IGF1-IGFBP

Nel corso dello studio da noi condotto ci siamo occupati di valutare in che modo i valori di cortisolo e IGF1 nei primi giorni di vita correlino con il peso alla nascita.

Gli IGFs rappresentano tra i più importanti fattori di crescita endocrini e paracrini che regolano la crescita fetale, placentare e post-natale; sono ormoni ad azione anabolizzante, la cui produzione è mediata dal GH placentare e, visto il loro ruolo nel regolare svariate attività biologiche, come la proliferazione e la differenziazione cellulare, lo sviluppo, la crescita tissutale e la conservazione della funzionalità mitocondriale, molti studi hanno ipotizzato che alla base di un ritardo di crescita intrauterino possa esserci proprio una carenza quantitativa di tali fattori (da qui la possibilità di sfruttare come opzione terapeutica la somministrazione durante la gestazione di basse dosi di IGFs).⁵¹

La produzione di IGF-2 risulta predominante durante il periodo di crescita embrionale, quella di IGF-1 durante quello fetale; l'IGF-1 (anche chiamato somatomedina) viene prodotto soprattutto a livello epatico e, durante la gestazione, la placenta ne rappresenta la principale sorgente.

Tale fattore ha un'attività insulina simile e, una volta rilasciato nel circolo ematico, viene legato dalle cosiddette IGF-BP (IGF binding proteins); queste proteine di legame servono ad aumentare l'emivita plasmatica dell'IGF1, così da aumentarne la permanenza nel torrente ematico. Tuttavia è stato osservato come valori elevati di IGF-BP1 abbiano, probabilmente causando il sequestro di IGF1, un'azione inibitoria sulla crescita fetale.

Al contrario, l'IGF-BP3 presenta dei valori ematici notevolmente ridotti nel sangue cordonale dei feti IUGR; tale proteina, al contrario dell'IGF-BP1, legandosi all'IGF1 circolante, ne aumenta l'emivita plasmatica e la disponibilità biologica.

Pertanto, mentre i livelli di IGF-1 risultano essere direttamente proporzionali al peso alla nascita, la concentrazione ematica di IGF-BP-1 presenta una correlazione di tipo inverso con il peso neonatale.

Bassi livelli di IGF-1 sarebbero inoltre correlati ad un ritardo di crescita extrauterino, da intendere sia come esito di un ritardo di crescita fetale durante la gestazione (squilibri ormonali durante la gravidanza, quali bassi livelli sierici di IGF-2, possono influire negativamente sui

livelli post-natali di IGF-1 e, di conseguenza, sullo sviluppo e sulla crescita post-natali), sia come fenomeno indipendente.⁵²

Abbiamo valutato in che modo i livelli di IGF-1 nei primi giorni di vita correlino con il peso alla nascita dei gemelli inclusi nella nostra coorte di pazienti e, nonostante quanto riportato dalla letteratura, non si è evidenziata alcuna correlazione positiva tra le due variabili (*figura 16*); il coefficiente di correlazione (o regressione) r è infatti pari a 0,06 (in genere nel settore biomedico e in epidemiologia vengono considerati indicativi di una correlazione positiva significativa valori di $r >$ di 0,7, e indicativi di una correlazione negativa significativa valori di $r <$ - 0.7).

I livelli di IGF-1, nell'ambito del nostro studio, non sembrano correlare neanche con il peso alla dimissione ($r=0,2$, *figura 17*).

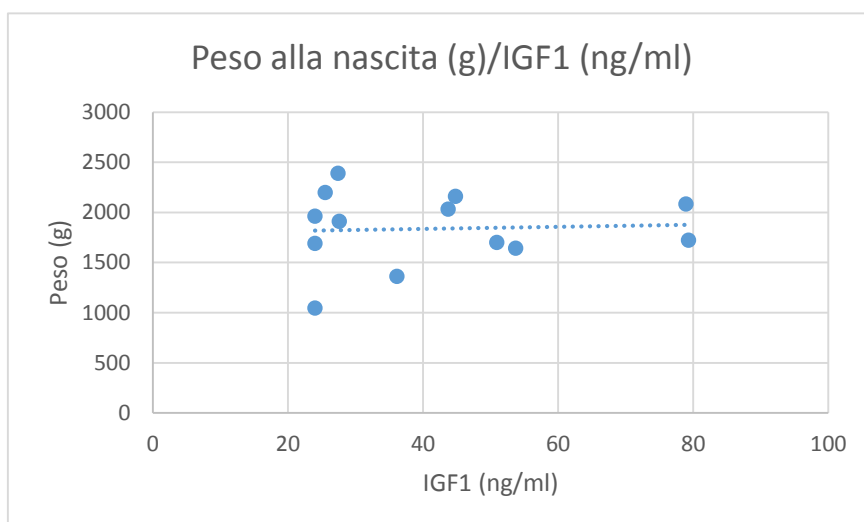


FIGURA 16: Retta di regressione lineare Peso alla nascita/IGF1

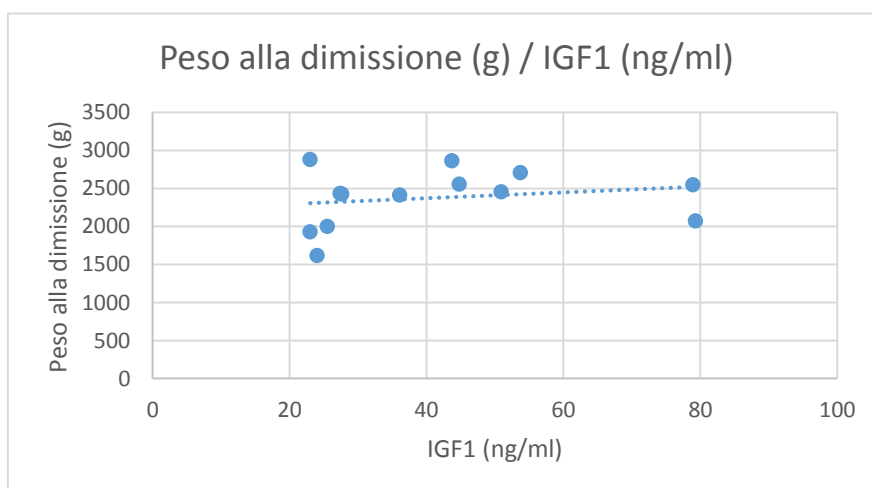


FIGURA 17: Retta di regressione lineare Peso alla dimissione/IGF1

Ruolo dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e livelli di cortisolemia

La funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene si modifica drasticamente nel corso della gravidanza, con livelli di cortisolo che aumentano da 2 a 4 volte rispetto al periodo pre-gestazionale. Il CRH (Corticotropin-Releasing Hormone) di origine citotrofoblastica regola la produzione di ACTH da parte del sinciziotrofoblasto, con conseguente aumento dei valori di cortisolo libero nel sangue materno. Il CRH secreto nel circolo fetale stimola la produzione di cortisolo anche nel feto inducendo, mediante la stimolazione della sintesi del surfactante, la maturazione polmonare fetale. ¹⁶

Al fine di fronteggiare le elevate concentrazioni ematiche di cortisolo materno, a livello placentare viene prodotto un enzima, l'11- β -idrossisteroide deidrogenasi-2 (11 β -HSD2), che ossida il cortisolo nella sua forma inattiva, il cortisone, regolando quindi l'esposizione del feto all'azione dei glucocorticoidi; alcuni studi hanno evidenziato come una ridotta attività di tale enzima, con conseguente esposizione ad elevati livelli di cortisolemia, correli positivamente con il basso peso alla nascita e con lo sviluppo, in età adulta, di ridotta tolleranza glucidica e ipertensione arteriosa.

E' ancora discusso il ruolo del CRH nell'insorgenza del parto pretermine e di ipossia fetale cronica. Nella nostra casistica non si è evidenziata una correlazione significativa tra i valori di cortisolo e l'età gestazionale alla nascita ($r = 0,05$, figura 18).

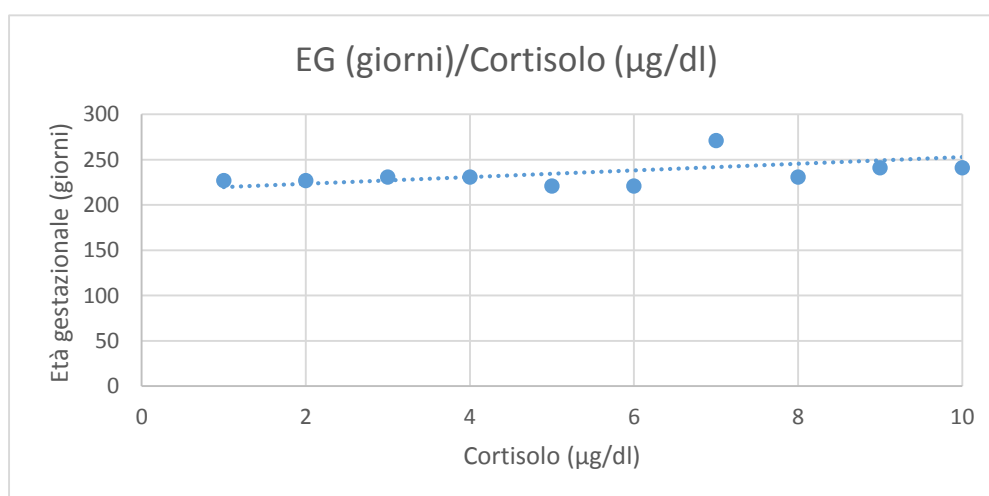


FIGURA 18: Retta di regressione lineare Età gestazionale/Cortisolemia

Anche per quanto riguarda la relazione tra i livelli di cortisolemia e il peso alla nascita non si sono riscontrate correlazioni significative nell'ambito della coorte di pazienti oggetto del nostro studio ($r = 0,05$ figura 19).

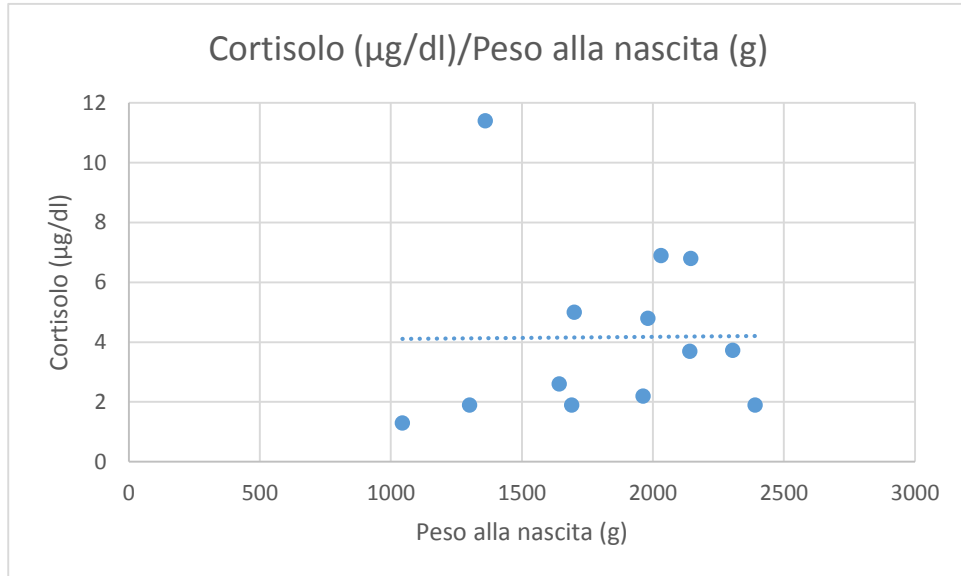


FIGURA 19: Retta di regressione Cortisolemia /Peso alla nascita

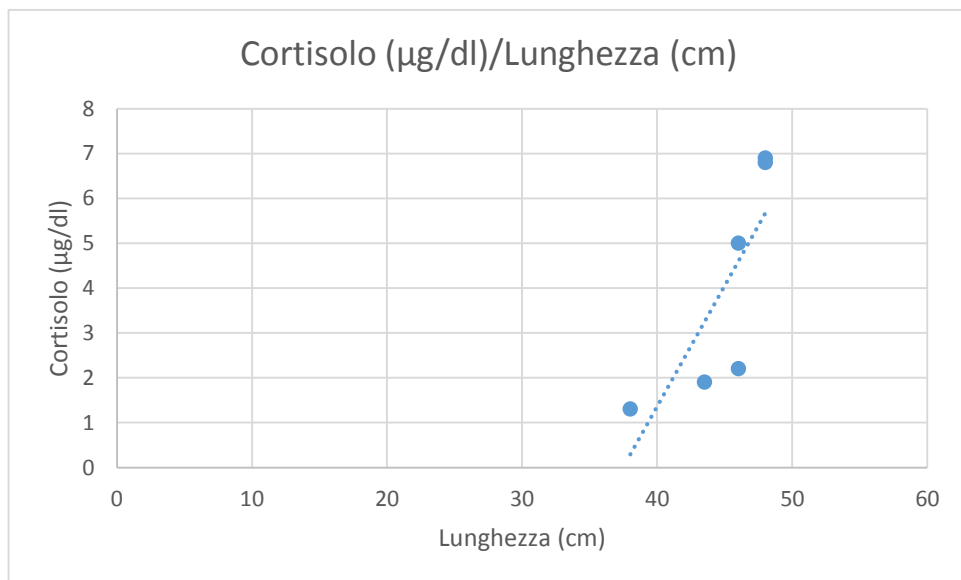


FIGURA 20: Retta di regressione lineare Cortisolemia/Lunghezza alla dimissione ($r=0,8$)

Abbiamo valutato, tramite rette di regressione lineare, anche le correlazioni tra i valori di cortisolemia e il peso, la circonferenza cranica e la lunghezza del neonato alla dimissione. Nell'ambito della nostra casistica si sono osservate delle correlazioni positive tra i valori di

cortisolemia e la lunghezza alla dimissione ($r=0,8$) e tra i valori di cortisolemia e la misura della circonferenza cranica alla dimissione ($r=0,7$).

Tale osservazione, in contrasto con quanto riportato in letteratura (più alti valori di cortisolemia dovrebbero infatti associarsi ad una minore lunghezza alla dimissione), è probabilmente da attribuire all'esiguo numero di pazienti inclusi nel nostro studio che, durante la degenza, sono stati sottoposti al dosaggio della cortisolemia.

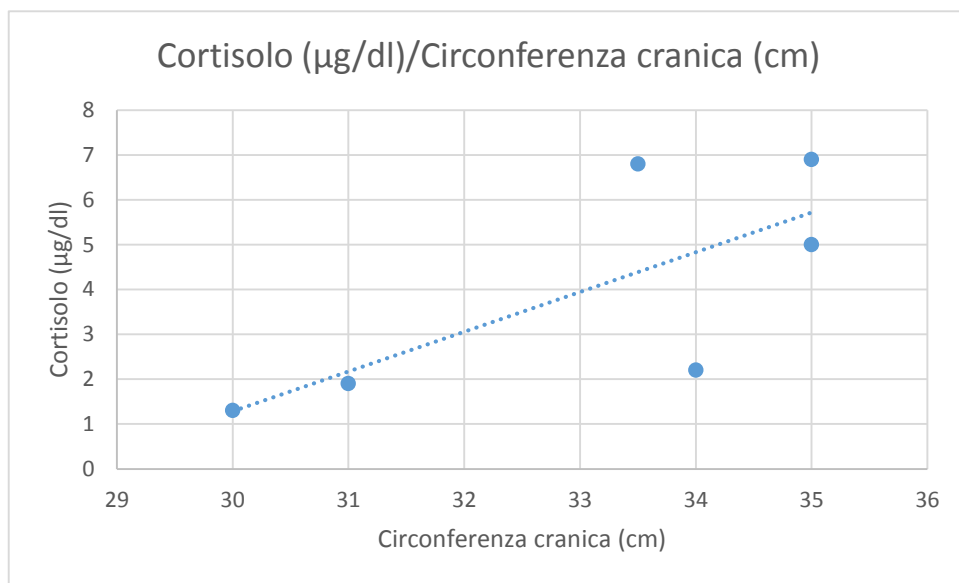


FIGURA 19: Regressione lineare Cortisolemia /CC alla dimissione ($r=0,7$)

CONCLUSIONI

L'analisi retrospettiva da noi condotta ha come obiettivo quello di dimostrare in che misura corionicità, età gestazionale ed entità della discordanza di peso alla nascita possano influire sull'outcome neonatale dei gemelli con peso discordante alla nascita.

In conclusione, dal nostro lavoro, emerge che la corionicità non rappresenta il fattore più importante nel determinare la morbidità neonatale, fatta eccezione per una maggiore durata media della degenza nei gemelli monocoriali (indice del fatto che questa tipologia di gemelli è di norma considerata più a rischio per lo sviluppo di complicanze perinatali, specie per quanto riguarda lo sviluppo di RDS, sebbene tale patologia, nel nostro campione, non sia risultata significativamente più frequente nei MC rispetto che nei BC), per una maggiore incidenza di basso peso alla nascita e di ritardo di crescita extrauterino e per lo sviluppo di ipocalcemia con conseguente necessità di trattamento con calcio gluconato nei primi giorni di vita.

La monocorionicità, a differenza di quanto riportato in letteratura, non ha influenzato, nell'ambito della nostra popolazione, l'occorrenza di malformazioni, che sembrano al contrario essere maggiormente correlate, specie per quanto riguarda la pervietà del dotto di Botallo, al sesso maschile, al basso peso alla nascita e alla prematurità.

Nella nostra casistica, la monocorionicità si associa ad un più elevato grado di discordanza di peso alla nascita; quest'ultima, in particolare quando supera il 20%, rappresenta, al contrario della corionicità, un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di distress respiratorio e di ittero neonatale, svolgendo pertanto un ruolo nella modulazione della prognosi di questi pazienti.

L'età gestazionale costituisce un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di RDS, ittero neonatale, anemia, EUGR e basso peso/lunghezza alla nascita.

Confrontando, all'interno del gruppo dei gemelli bicoriali, i neonati a termine di peso minore della relativa coppia con quelli pretermine di peso maggiore, l'incidenza di distress respiratorio si è dimostrata decisamente più elevata tra i gemelli bicoriali pretermine di peso maggiore.

Possiamo concludere che la bassa età gestazionale sembra rappresentare, almeno per quanto riguarda la nostra casistica, il fattore di rischio maggiormente incidente sull'insorgenza di complicanze e sviluppo di morbidità neonatale nelle gravidanze gravate da discordanza di peso.

Per ciò che concerne la validità di questo studio, i limiti sono principalmente dovuti alle caratteristiche retrospettive del disegno sperimentale (motivo per cui non è stato possibile controllare eventuali altri fattori di rischio concomitanti) e all'outcome a breve termine, in conseguenza del quale non ci è stato consentito di valutare pienamente le possibilità di disabilità permanenti che potrebbero associarsi alle condizioni di rischio neonatale.

In conclusione, riteniamo che il nostro studio possa integrarsi in uno studio prospettico multicentrico di più ampio respiro, il cui fine ultimo sia l'analisi dell'outcome a lungo termine nei nati da parto gemellare discordanti per peso e in cui vengano considerati anche quei fattori anamnestici e biologici che fanno parte della valutazione di routine del neonato a rischio.

BIBLIOGRAFIA

1. James S, Weiner, Gonik. High Risk Pregnancy: management options. London; 1999.
2. Ananth CV, Chauhan SP. Epidemiology of twinning in developed countries. *Seminars in perinatology* 2012; 36(3): 156-61.
3. Bortolus R, Parazzini F, Chatenoud L, Benzi G, Bianchi MM, Marini A. The epidemiology of multiple births. *Human reproduction update* 1999; 5(2): 179-87.
4. Di Carlo C, Di Spiezio Sardo A, Nappi C. Gravidanza multipla.
http://www.asf.toscana.it/index.php?option=com_content&id=465%3Agravidanza-multipla&Itemid=60.
5. Sirimarco F, Albano G. Gravidanza gemellare.
http://www.aniellodimeglio.com/pubblico/gravidanza_gemellare.htm (accessed 02.2016 2016).
6. Ferrazzani S, Merola A, De Carolis S, Carducci B, Paradisi G, Caruso A. Birth weight in pre-eclamptic and normotensive twin pregnancies: an analysis of discordance and growth restriction. *Human reproduction (Oxford, England)* 2000; 15(1): 210-7.
7. al. WMe. Diagnosi precoce della gravidanza multipla e ruolo dell'ecografia. Brescia; 2003.
8. Morin L, Lim K. Ultrasound in twin pregnancies. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC* 2011; 33(6): 643-56.
9. Lees CC, Schwarzler P, Ville Y, Campbell S. Stuck twin syndrome without signs of twin-to-twin transfusion. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 1998; 12(3): 211-4.
10. Evron E, Sheiner E, Friger M, Sergienko R, Harlev A. Vanishing twin syndrome: is it associated with adverse perinatal outcome? *Fertil Steril* 2015; 103(5): 1209-14.
11. Pharoah POD, Price TS, Plomin R. Cerebral palsy in twins: a national study. *Archives of disease in childhood* 2002; 87(2): F122-F4.

12. T.G. TOMASELLI LS, R. ZARBO, G. ZIZZA, G. ZARBO. Gravidanza gemellare monocoriale con feti discordanti. Morte intrauterina del feto malformato (feto papiraceo). Case report. *Giorn It Ost Gin* Giugno-Luglio 2007 XXIX, n 6-7.
13. Pharoah POD. Neurological outcome in twins Elseviers; 2002.
14. Ree IM, Smits-Wintjens VE, Rijntjes-Jacobs EG, et al. Necrotizing enterocolitis in small-for-gestational-age neonates: a matched case-control study. *Neonatology* 2014; 105(1): 74-8.
15. Rauh-Hain JA, Rana S, Tamez H, et al. Risk for developing gestational diabetes in women with twin pregnancies. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2009; 22(4): 293-9.
16. Ferdinando Bombelli MTC. Ginecologia e Ostetricia. 4 ed: Società editrice Esculapio; 2014.
17. MacKay AR, Berg CJ, King JC, Duran C, Chang J. Pregnancy-related mortality among women with multifetal pregnancies. *Obstetrics and gynecology* 2006; 107(3): 563-8.
18. Sarah Stock JN. Preterm and term labour in multiple pregnancies. Elsevier 2010.
19. Frigerio F. Core Curriculum - Ostetricia e Ginecologia: Mcgraw-hill Education; 2013.
20. Dias T, Akolekar R. Timing of birth in multiple pregnancy. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2014; 28(2): 319-26.
21. Tommasi DL. Twin-Twin Transfusion Syndrome: Università degli Studi di Padova; 2012-2013.
22. Nanthakomon T, Chanthasenanont A, Somprasit C, Manusook S, Pongroj paw D, Suwannarurk K. Twin Reversed Arterial Perfusion (TRAP) Sequence: A Case Report and Review of Treatment. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmaihet thangphaet* 2015; 98 Suppl 3: S132-40.
23. Bharadwaj MK, Mohana Priya N. A rare complication of monochorionic twin pregnancy: Twin-reversed arterial perfusion (TRAP) sequence. *Medical journal, Armed Forces India* 2015; 71(Suppl 1): S114-5.
24. Berg C, Holst D, Mallmann MR, Gottschalk I, Gembruch U, Geipel A. Early vs late intervention in twin reversed arterial perfusion sequence. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2014; 43(1): 60-4.

25. Cabassa P, Fichera A, Prefumo F, et al. The use of radiofrequency in the treatment of twin reversed arterial perfusion sequence: a case series and review of the literature. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2013; 166(2): 127-32.
26. Paolo Ghirri AB. IL NEONATO PICCOLO PER L'ETA' GESTAZIONALE (SGA) *Rivista Italiana di Medicina dell'Adolescenza* 2010; 8(3).
27. Martin-Estal I, de la Garza RG, de Cortazar IC. Intrauterine Growth Retardation (IUGR) as a Novel Condition of Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) Deficiency. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 2015.
28. Cohen E, Wong FY, Horne RS, Yiallourou SR. Intrauterine growth restriction: impact on cardiovascular development and function throughout infancy. *Pediatric research* 2016.
29. Nobili V, Alisi A, Panera N, Agostoni C. Low birth weight and catch-up-growth associated with metabolic syndrome: a ten year systematic review. *Pediatric endocrinology reviews : PER* 2008; 6(2): 241-7.
30. Rosenberg A. The IUGR newborn. *Seminars in perinatology* 2008; 32(3): 219-24.
31. Cao W, Zhang YH, Zhao DY, Xia HP, Zhu TW, Xie LJ. [Risk factors for extrauterine growth restriction in preterm infants with gestational age less than 34 weeks]. *Zhongguo dang dai er ke za zhi = Chinese journal of contemporary pediatrics* 2015; 17(5): 453-8.
32. Ortiz Espejo M, Gil Campos M, Munoz Villanueva MC, Perez Navero JL. [Metabolic changes in prepuberty children with extrauterine growth restriction]. *Anales de pediatria* 2012; 77(4): 247-53.
33. Zhang L, Du L, Tang L, Lao L, Hu Q. 7a.03: Transgenerational Inheritance of Genome-Wide DNA Methylation Profiles in Pulmonary Vascular Endothelial Dysfunction Following Extrauterine Growth Restriction. *Journal of hypertension* 2015; 33 Suppl 1: e89-90.
34. Puccio G, Giuffre M, Piccione M, Piro E, Malerba V, Corsello G. Intrauterine growth pattern and birthweight discordance in twin pregnancies: a retrospective study. *Italian journal of pediatrics* 2014; 40: 43.
35. Ben-Ami I, Sheena L, Svirsky R, et al. The association of crown-rump length discrepancy with birthweight discordance in spontaneous versus assisted conception dichorionic twins. *Prenatal diagnosis* 2014; 34(8): 748-52.

36. Klam SL, Rinfret D, Leduc L. Prediction of growth discordance in twins with the use of abdominal circumference ratios. *American journal of obstetrics and gynecology* 2005; 192(1): 247-51.
37. Zadori J, Kozinszky Z, Orvos H, Katona M, Kaali SG, Pal A. Birth weight discordance in spontaneous versus induced twins: impact on perinatal outcome. *Journal of assisted reproduction and genetics* 2004; 21(3): 85-8.
38. Canpolat FE, Yurdakok M, Korkmaz A, Yigit S, Tekinalp G. Birthweight discordance in twins and the risk of being heavier for respiratory distress syndrome. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies* 2006; 9(5): 659-63.
39. Kent EM, Breathnach FM, Gillan JE, et al. Placental cord insertion and birthweight discordance in twin pregnancies: results of the national prospective ESPRiT Study. *American journal of obstetrics and gynecology* 2011; 205(4): 376 e1-7.
40. Canpolat FE, Cekmez F, Sarici SU, Korkmaz A, Yurdakok M. Insulin-like growth factor-1 levels in twins and its correlation with discordance. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies* 2011; 14(1): 94-7.
41. Bajoria R, Sooranna SR, Ward S, Chatterjee R. Elevated IGFBP-1 cause high bone turnover in growth-restricted monochorionic twins with discordant birth weight. *Bone* 2006; 38(6): 929-34.
42. Sooranna SR, Ward S, Bajoria R. Fetal leptin influences birth weight in twins with discordant growth. *Pediatric research* 2001; 49(5): 667-72.
43. Ross GS, Krauss AN, Perlman JM. Physical growth and cognitive abilities in concordant versus discordant birth weight twins at three years old. *Early human development* 2012; 88(9): 753-6.
44. Mankuta D, Goldner I, Knafo A. Intertwin birth weight differences and conduct problems in early childhood. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 2010; 164(5): 457-61.
45. Miller F. Cerebral Palsy; 2005.
46. P.O.D. Pharoah SVGaJR. Congenital anomalies in multiple births after early loss of a conceptus. *Human Reproduction* 2009; 24(3): 726-31.
47. Webb RD, Shaw NJ. Respiratory distress in heavier versus lighter twins. *Journal of perinatal medicine* 2001; 29(1): 60-3.

48. Lopriore E, Sluimers C, Pasma SA, Middeldorp JM, Oepkes D, Walther FJ. Neonatal morbidity in growth-discordant monochorionic twins: comparison between the larger and the smaller twin. *Twin research and human genetics : the official journal of the International Society for Twin Studies* 2012; 15(4): 541-6.
49. Seaborn T, Simard M, Provost PR, Piedboeuf B, Tremblay Y. Sex hormone metabolism in lung development and maturation. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM* 2010; 21(12): 729-38.
50. Marttila R, Haataja R, Ramet M, Lofgren J, Hallman M. Surfactant protein B polymorphism and respiratory distress syndrome in premature twins. *Human genetics* 2003; 112(1): 18-23.
51. Han VK. The ontogeny of growth hormone, insulin-like growth factors and sex steroids: molecular aspects. *Hormone research* 1996; 45(1-2): 61-6.
52. Begemann M, Zirn B, Santen G, et al. Paternally Inherited IGF2 Mutation and Growth Restriction. *The New England journal of medicine* 2015; 373(4): 349-56.

RINGRAZIAMENTI

La fine del mio percorso di studi è giunta al termine. Ci sarebbero tante persone da ringraziare, molte più di quante ne nominerò in questi ringraziamenti, anche solo per un sorriso che mi hanno strappato o una parola gentile che mi hanno rivolto e che mi ha risollevato la giornata.

Ringrazio il Prof. Boldrini per avermi accolta nel suo reparto, per la fiducia nei miei confronti e per aver saputo valorizzare il mio entusiasmo e il mio interesse per la neonatologia.

Ringrazio il Dr. Ghirri per la sua pazienza, la sua disponibilità e per tutto l'aiuto fornitomi durante questi mesi.

Ringrazio dal profondo del cuore i miei genitori, punto fermo delle mie giornate e della mia vita. A mia madre devo tutto: i difficoltosi risvegli mattutini, gli incoraggiamenti, i “balletti”, la dolcezza, la costanza, la scrupolosità, l'autostima e la voglia di mettermi in gioco che ho avuto in questi anni e che spero continueranno ad accompagnarmi nelle mie scelte future.

Mio padre è semplicemente ed essenzialmente “il mio papane”; lui è, come mia madre, in tutte le mie giornate, in tutte le mie scelte, in ogni mia decisione. E' stato importante fino alla fine di questo percorso, quando i pomeriggi in cucina tra uno sfogo e l'altro sembravano interminabili e la voglia di mandare tutto all'aria era tanta. E' e sempre sarà la mia forza, in tutti i miei giorni.

Ad Eugenio, mio fratello, devo la mia indipendenza: da sempre mi ha guidata nelle scelte importanti e da sempre mi ha trattata da “adulta”, nonostante i nove anni di differenza, proteggendomi quando necessario. Anche se non te lo dico spesso, perché le smancerie non fanno per noi, sei davvero il miglior fratello maggiore che potessi mai avere.

Ringrazio Antonella, mia cognata (tra poco in modo ufficiale, ma nel mio cuore lo è sempre stata): dal primo momento mi ha trattata come una sorella, mi sono sentita voluta bene e capita e ho scoperto in lei un'amica. Grazie per il tempo e le energie che mi hai dedicato.

Ringrazio i miei nonni, Anna ed Espedito, che con le loro telefonate di incoraggiamento la mattina dell'esame, gli “auguri” al posto degli “in bocca al lupo”, il ricordarmi di mangiare, di dormire e di “accettare le caramelle dagli sconosciuti, ma poi buttarle” sono stati indispensabili.

Con la loro saggezza mi hanno sempre fatta commuovere e pensare che, nella vita, la forza che dobbiamo avere non è mai abbastanza, neanche a più di 90 anni.

Ringrazio mia nonna Lea, che di parole dolci e sincere ne ha sempre dette tante fin quando poi non ne ha potute dire quasi più. Ma la dolcezza e la sincerità sono rimaste nei suoi occhi azzurri, e quando mi guarda io mi sento come quando parlavamo le ore a telefono o come quando chiacchieravamo sul divano come due coetanee.

Ringrazio il “Prof.” Alessandro Palla per il preziosissimo e indispensabile supporto tecnico fornitomi con tanta simpatia in un piovoso sabato di Febbraio.

Un enorme grazie va ai miei Amici, tra i più cari che potessi mai pensare di meritare.

A Marco, amico, collega e confidente, che in questi anni ha condiviso con me ogni successo e ogni sconfitta, ogni lamentele e ogni gioia, fino a questo giorno, in cui è qui dove doveva essere, laureato accanto a me.

Ad Andrea, amico e collega, che oggi, dopo i tanti sacrifici, taglia con me il traguardo.

A Isotta, compagna di scleri, di programmi di studio mai rispettati, di esami che sembravano ed erano veramente enormi, di telefilm e di tanto tanto altro ancora.

A Patrick (Patrizio), collega, amico, compagno di vacanze e di grandi serate.

A Flavia (Cicia), arrivata qui insieme a me e accanto a me da ormai 20 anni, compagna di scuola, di giochi, collega, coinquilina ma, soprattutto, grande ed affettuosa amica.

Ad Elena, splendida persona e preziosa amica, che in così poco tempo ha saputo trasmettermi tutto il suo affetto e, in molte occasioni, la sua enorme forza d’animo che la contraddistingue in ogni cosa che fa. Avrei solo voluto incontrarti prima.

A Nati, perché senza il suo affetto, le sue parole, i suoi messaggi audio, le sue foto e i suoi arrivi a Pisa sotto il diluvio per ricordarmi che “Non sei sola” [cit.] le mie giornate non sarebbero più le stesse.

A Ema e Valerio (li ringrazio insieme perché ormai sono inseparabili anche in questo): siete preziosi, ho provato a dirvelo tante volte; grazie di tutto, del sostegno fondamentale in questi ultimi mesi, delle risate, delle prese in giro, delle canzoni napoletane, dei film improbabili visti a gennaio, delle mozzarelle e di tante tante altre cose. Grazie per esserci sempre.

A Leonardiello, amico fidato dai banchi di scuola fino al primo giorno di università, alla laurea e, spero, fino a tanti tanti altri traguardi.

A Soniuccia (Sventol), amica preziosa fin da quando avevamo sei anni (il nostro patto di amicizia segreto deve aver funzionato): grazie per le risate, le lunghe telefonate, gli immancabili in bocca al lupo e il sostegno che mi hai dato in questi anni.

A Irene, che con la sua famiglia mi ha coccolata e voluta bene in tutti questi anni e che domani torna dal Portogallo per festeggiare insieme a me, rendendomi tanto felice.

Grazie, davvero.