



Antonio Ragusa
Alessandro Svelato
Sara D'Avino
Dipartimento Materno
Infantile; Nuovo Ospedale
delle Apuane, Massa
Carrara

REVIEW / EPIGENETICA

Per un buon inizio: imprinting ambientale alla nascita

Il nostro organismo e l'espressione del nostro bagaglio genetico sono condizionati dall'ambiente circostante. In questa revisione vengono forniti esempi su come i meccanismi epigenetici possano influenzare la salute futura della diade materno neonatale durante il parto

Meccanismi biologici alla base dell'imprinting e della memoria cellulare

LE MALATTIE CHE SI MANIFESTANO nella vita adulta sono determinate non solo da fattori genetici, ma da numerosi fattori epigenetici che entrano in gioco già durante la vita fetale, al momento del parto e dopo la nascita [3].

I principali meccanismi epigenetici sono i seguenti:

1. impronta e silenziamento genomico dell'insieme paterno dei cromosomi [4];
2. modelli di espressione "on" o "off" imprevedibili dei geni wild-type (es. variazione di effetti di posizione, transgeni, ecc.);
3. paramutazioni (le interazioni alleliche dirette portano a cambiamenti ereditabili nello stato di un allele) [5];
4. stati alternativi di ripiegamento proteico, che possono essere propagati da una molecola proteica a un'altra.

Tutti questi fenomeni hanno una memoria cellulare in comune [6].

L'espressione di un gene può essere completamente cambiata dopo che è stato attivato da diversi agenti come stress, nutrizione materna, farmaci, modalità del parto, presenza o assenza di travaglio, ambiente, diversi comportamenti assistenziali o la eventuale colonizzazione dei microrganismi. Ad esempio il clampaggio precoce o tardivo del cordone ombelicale o il tipo di allattamento al seno determinano un cambiamento nell'espressione genica. La teoria dell'imprinting può essere considerata una buona base scientifica per spiegare la permanenza di alcuni effetti biologici a considerevole distanza dalla nascita. Come scrive György Csaba: *"La nascita è una pietra miliare nella vita di una persona. Prima della nascita, il corpo della madre protegge il feto e gli ormoni della madre, che attraversano la placenta, influenzano il sistema endocrino fetale. Dopo la nascita, il bambino*

Parole chiave:
Epigenetica
Periodo della nascita
Imprinting
Assistenza intrapartum
Travaglio
Ambiente

“ La teoria dell'imprinting è una buona base scientifica per spiegare la permanenza di alcuni effetti biologici a considerevole distanza di tempo dalla nascita. L'imprinting è un importante meccanismo di controllo dell'espressione futura del DNA

Definizioni

Ambiente

L'ambiente è tutto ciò che ci circonda; può essere vivente o non vivente ed include forze fisiche, chimiche e di altra natura. Gli esseri viventi vivono nel loro ambiente, interagiscono costantemente con esso e si adattano alle sue condizioni. Più precisamente l'ambiente può essere definito come: "I dintorni o le condizioni in cui una persona, un animale o una pianta vive o opera" [1]. Per analogia, in questo articolo definiremo il luogo del parto come "l'ambiente e le condizioni in cui una donna partorisce".

Periodo della nascita

Si definisce periodo della nascita il periodo immediatamente prima e dopo la nascita stessa. Precisamente, questo periodo comincia all'inizio del travaglio (fase latente) e termina il primo giorno dopo il parto. Durante questo periodo, coloro che assistono il parto, ed il luogo in cui quest'ultimo avviene, rappresentano l'ambiente del parto.

Imprinting

L'imprinting è l'"apprendimento rapido che si verifica durante un breve periodo di ricettività che caratterizza il momento subito dopo la nascita o la schiusa. L'imprinting stabilisce una risposta comportamentale duratura verso un individuo o un oggetto specifico come l'attaccamento al genitore o alla prole" [2]. In questo articolo analizzeremo le conseguenze dell'Imprinting biologico nel periodo della nascita.

Epigenetica

L'epigenetica si occupa dello studio delle modificazioni ereditabili che portano a variazioni nell'espressione genica, senza alterare la sequenza del DNA e senza causare cambiamenti nella sequenza dei nucleotidi che compongono il DNA. L'epigenetica studia i meccanismi che sono in grado di variare il fenotipo, senza modificare il genotipo. Le istruzioni epigenetiche, quando coinvolgono le cellule germinali, possono essere trasmesse alla prole.

Riassunto

IL NOSTRO ORGANISMO e l'espressione del nostro bagaglio genetico sono condizionati dall'ambiente circostante. Questo assunto si è sviluppato da modelli sperimentali sugli animali, ma sempre maggiori evidenze dimostrano analogie di comportamento anche negli esseri umani. Diversi studi supportano il fatto che la salute neonatale e la salute materna dipendano anche dalle interazioni tra l'ambiente e il DNA stesso. Anche se la sequenza del DNA rimane la stessa nel corso degli anni, alcuni tratti genetici dell'essere umano possono essere influenzati dal silenziamento o dall'attivazione di alcune sequenze nucleotidiche, ad esempio mediante la metilazione del DNA. Oggi l'epigenetica è molto più importante di quanto si pensasse nel 1942 quando Waddington usò per la prima volta la parola "epigenetica". L'ambiente può effettivamente modificare l'espressione della sequenza del DNA, influenzando la produzione di proteine e il fenotipo.

In questa revisione vengono forniti esempi su come i meccanismi epigenetici possano influenzare la salute futura della diade materno neonatale durante il parto. **Sono presentati quattro meccanismi epigenetici.** Alcuni geni sono attivati/disattivati dallo stress, dalla nutrizione materna, dai farmaci (quali ad esempio ossitocina ed antibiotici), dal travaglio, dalle modalità di parto, dai comportamenti ambientali e dalla colonizzazione dei microrganismi. La teoria dell'imprinting è una buona base scientifica per spiegare la permanenza di alcuni effetti biologici a considerevole distanza di tempo dalla nascita. L'imprinting è un importante meccanismo di controllo dell'espressione futura del DNA, **l'imprinting alla nascita, causato sia da fattori ormonali che non ormonali, sarà discusso in questa revisione.** Discuteremo anche delle conseguenze dell'uso di antibiotici nel periodo del parto e dell'importanza della consapevolezza nell'uso della profilassi antibiotica. Gli antibiotici prenatali e il taglio cesareo influenzano molto il microbioma neonatale e possono essere cause di disturbi infiammatori intestinali, dell'asma, del diabete e dell'obesità. Il travaglio, la modalità del parto, l'allattamento al seno e la pratica del *pelle a pelle*, sono strettamente attinenti alla salute futura neonatale. Uno dei fattori più importanti per spiegare le suddette malattie è probabilmente la mancanza di "contaminazione batterica" attraverso il canale del parto. Ma questo meccanismo non è l'unico ad agire. Infine, la cultura e l'educazione degli operatori e lo stile di assistenza degli attori del parto possono modificare la salute a lungo termine della diade.

inizia la sua vita e il sistema endocrino controllato dal cervello dirige chimicamente le azioni dell'organismo. Ciò richiede l'impostazione della nuova relazione tra il recettore e il sistema ormonale" [7]. La transizione da feto a neonato è uno dei processi più complessi nell'esistenza biologica. Il passaggio del feto da un ambiente ipossico in utero ad un ambiente ricco di ossigeno ha diverse conseguenze. Nei primati, nei primi tre giorni di vita, Beckstrom ha osservato un aumento delle sostanze correlate alle vie di riduzione-ossidazione della catena di trasporto degli elettroni [8]. In particolare, il mioinositolo e l'acido glutammico, essenziali per l'omeostasi intracellulare [9], per l'espressione genica [10] e per il metabolismo dei grassi [11], subiscono importanti cambiamenti in questa fase di transizione. I cambiamenti di tali sostanze, determinati al momento della nascita permangono nell'età adulta, grazie al meccanismo epigenetico di memoria cellulare. Quest'ultimo è mediato soprattutto, ma non solo, dalla modellizzazione del sistema immunitario del neonato, che subisce un enorme cambiamento dal momento della rottura delle membrane (PROM) [12]. Al momento non sappiamo se il feto durante la gestazione si trovi in un ambiente sterile [13] oppure se, come sostengono altri autori, sia in un ambiente colonizzato da procari di vario tipo [14]. Tuttavia, di fatto, prima che le membrane amniocoriali si rompano, il feto può essere a contatto solamente con una piccola quantità di procari. Quando avviene la rottura prematura delle membrane avviene il contatto primordiale tra una grande quantità di procari ed il feto: "... Questo continua una catena di eredità materna che si estende attraverso l'ascendenza femminile da migliaia di generazioni; tutti siamo

nati e siamo stati allattati al seno, trilioni di microrganismi ci sono stati trasmessi in questo modo, attraverso questi complessi meccanismi, per fare in modo che il nostro microbioma assomigliasse al microbioma di nostra madre, nostra nonna, bisnonna e così via ..." [15]. Nella vita intrauterina il basso rapporto citochine Th1/Th2 difende il feto dal rigetto da parte del sistema immunitario materno [16]. Dopo la PROM, durante il travaglio e nella vita extrauterina, a causa dell'esposizione ai microrganismi, è necessaria una maggiore produzione di citochine Th1; di conseguenza l'elevato rapporto Th1/Th2 mantiene una risposta immunitaria efficiente [17]. Inoltre, dopo la nascita, gli ormoni materni quali estrogeni, progesterone, testosterone e le prostaglandine antinfiammatorie cessano rapidamente di essere presenti nella circolazione neonatale. Il passaggio da un basso ad un elevato rapporto Th1/Th2 è determinato da una complessa rete cellulare e umorale; se interveniamo in maniera inopportuna e inconsapevole, alterando artificialmente questo delicato passaggio, che avviene nel momento in cui il feto passa dalla circolazione fetale a quella neonatale, sono inevitabili conseguenze complesse, imprevedibili e a lungo termine.

Il termine imprinting ormonale è stato coniato da Csaba negli anni 80 [7]. Quando un ormone si lega con il suo recettore per la prima volta stabilisce una relazione che durerà per tutta la vita dell'individuo, ma il sistema è ridondante e il tipo di relazione che il recettore instaura con il suo ormone di riferimento può cambiare in un modo plastico, per favorire un progressivo adattamento all'ambiente del nuovo essere vivente. Questo delicato meccanismo è mutevole e si mo-



La diade materno-fetale rappresenta un sistema complesso. I sistemi complessi sono caratterizzati dall'enorme quantità di interdipendenze e da reazioni non lineari, spesso difficili da individuare

difica continuamente nel corso della vita, ma è particolarmente sensibile nel periodo della nascita. I recettori sono programmabili solo per un breve periodo di sviluppo, dopo di che il tessuto e l'organo diventano permanentemente non reattivi all'imprinting [18].

Il termine imprinting è stato utilizzato in numerosi e differenti contesti, ma **in questa revisione questo termine è utilizzato con il significato di imprinting alla nascita**, causato sia da fattori ormonali che non ormonali. L'imprinting alla nascita è il fenomeno biologico che è alla base delle relazioni tra farmaci, ormoni, nutrizione, interferenti endocrini, inquinanti ambientali, esperienze di vita precoce e lo sviluppo futuro di malattie successive. L'imprinting è quindi parte integrante della memoria e dell'apprendimento cellulare; può avvenire in utero, durante la nascita o dopo la nascita.

Naturalmente l'esito delle perturbazioni dell'ambiente perinatale dipende anche dal background genetico dell'individuo [19]. L'imprinting è patologico quando sono somministrati analoghi ormonali, droghe e contaminanti ambientali, come interferenti endocrini o sostanze inquinanti [3] o anche per alterazioni quantitative degli ormoni stessi. Questi diversi meccanismi assumono il nome di *faulty hormonal imprinting* [7]. Inoltre la casualità gioca un ruolo fondamentale nella vita di ciascuno di noi: l'epigenoma può modulare gli effetti del rumore stocastico per facilitare le transizioni di fase nello sviluppo delle eventuali malattie, ma noi possiamo mutare le direzioni scelte dal caso, intervenendo durante il parto (utilizzando ad esempio ossitocina sintetica, antibiotici o tramite l'effettuazione del taglio cesareo) [20].

Il quadro che emerge da studi recenti è che i sistemi molto disordinati offrono il vantaggio significativo di generare una variabilità non genetica tra cellula e cellula, ovvero, possono deter-

minare comportamenti cellulari differenti e cellule che si comportano in modo non univoco, pur essendo geneticamente identiche l'una all'altra [21]. La stocasticità, riferendosi alla natura non deterministica di certi sistemi dinamici, deriva in ultima analisi dal fatto che i processi biologici sono fondamentalmente guidati da collisioni casuali tra un piccolo numero di macromolecole, dotate di molteplici stati conformazionali potenziali [20-21].

Un buon esempio della stretta relazione tra ambiente, genotipo e fenotipo sono i feti SGA (Small for Gestational Ages) o IUGR (Intra Uterine Growth Restriction). Questi bambini hanno un basso peso alla nascita a causa di un ambiente uterino inadatto, che non fornisce sufficiente energia. Tra questi feti, solo quelli che si adattano a questo ambiente ostile possono sopravvivere. Dopo la nascita, se questi neonati crescono in un ambiente ricco di energia, sviluppano malattie cardiovascolari in una percentuale maggiore rispetto ai neonati con peso alla nascita appropriato [24]. La diade materno-fetale rappresenta un sistema complesso. I sistemi complessi sono caratterizzati dall'enorme quantità di interdipendenze e da reazioni non lineari, spesso difficili da individuare [25]. **Le reazioni non lineari si distinguono dalle reazioni lineari:** se raddoppiamo la dose di un farmaco o di una dose di radiazioni non raddoppiamo semplicemente l'effetto, ma abbiamo un effetto maggiore del doppio o minore; se superiamo la dose letale, o il soggetto è particolarmente sensibile, possiamo determinare anche la sua morte, queste sono reazioni non lineari. Se tracciamo queste reazioni su un grafico, esse formano una linea curva e non una linea retta [26]. Non dobbiamo pensare solo a semplici associazioni causali, es. somministrare l'antibiotico e analizzare le reazioni avverse e il successo contro la malattia. Dobbiamo pensare ad un sistema complesso, es. somministrare l'antibiotico, contare le reazioni avverse e il successo contro la malattia, ma anche azioni a lungo termine e quelli sugli altri distretti dell'organismo, non solo sulla malattia.

DATI EPIDEMIOLOGICI

Nutrizione durante il travaglio e il parto

LE EVIDENZE NON MOSTRANO alcun beneficio riguardo alla restrizione di liquidi e di cibo durante il travaglio di parto nelle donne a basso rischio di complicanze. Al contrario, nessuno studio ha esaminato donne ad aumentato rischio di complicanze, ma, dato che non esistono prove a sostegno delle restrizioni di liquidi ed alimenti tra queste, sembra ragionevole non limitarne l'assunzione [27]. L'assunzione di cibo e liquidi deve



L'ossitocina endogena predice la sopravvivenza delle relazioni nelle coppie a lunga distanza di tempo dal parto



essere attentamente bilanciata con il rischio di polmonite *ab ingestis* e con il rischio di taglio cesareo urgente. Sebbene qualcuno continui a condurre studi sull'argomento, né l'aumento dell'idratazione per via endovenosa né l'idratazione orale o la somministrazione di destrosio nei liquidi per via endovenosa durante il travaglio migliorano gli esiti del travaglio di parto.

Piuttosto che essere disidratate – questo è quello che succede se non permettiamo di bere alle donne in travaglio – è meglio essere attaccati a una flebo, ma la soluzione migliore è permettere alle donne di bere durante il travaglio [28-30].

È interessante evidenziare che la distocia talvolta consegue a un travaglio prolungato e sfiibrante. È noto che nella medicina sportiva l'acido lattico può influire sulle prestazioni muscolari e può essere ridotto dal bicarbonato somministrato per via orale prima dell'attività fisica. Un recente studio ha valutato se un'assunzione orale di bicarbonato migliori l'esito dei travagli distocici; i primi risultati sono stati promettenti [31]. Invece non abbiamo a tutt'oggi evidenze circa l'effetto che l'assunzione di determinati alimenti/nutrienti nel travaglio, o immediatamente dopo la nascita potrebbero avere sulla salute del neonato, ma riteniamo che questo sia un argomento interessante da approfondire in studi futuri.

Farmaci durante il travaglio e il parto

IN QUESTA REVISIONE focalizzeremo la nostra attenzione sulla somministrazione di ossitocina sintetica e sulla profilassi antibiotica per lo streptococco. È dimostrato che la somministrazione di **ossitocina sintetica** durante il travaglio riduca la capacità di suzione neonatale e le possibilità di successo della pratica del *pelle a pelle* [32]. Un interessante studio condotto su topi ha dimostrato che somministrando ossitocina sintetica in singola dose subito dopo la nascita si determina un fenomeno di **"imprinting ormonale"** che modificherà il loro comportamento sociale e sessuale e quindi l'intera futura vita adulta del topo [33]. Ciò accade perché l'ossitocina sintetica, somministrata alla nascita, influenza il metabolismo della dopamina e della serotonina nell'ipotalamo dei cuccioli.

Essa infatti provoca una diminuzione del turnover nell'ipotalamo di questi due neurotrasmettitori che può agire sullo sviluppo di future malattie quali l'autismo e la schizofrenia. Bisogna però precisare che non si può sostenere che la somministrazione di ossitocina al parto determini da sola l'insorgere di malattie, poiché lo sviluppo di patologie così complesse, come l'autismo o la schizofrenia, è multifattoriale e richiede l'interazione di diversi fattori che agiscono sinergicamente. Una malattia genetica multifattoriale, non ancora pie-

“

Esistono evidenze che i macrolidi prescritti in gravidanza possano aumentare il rischio di paralisi cerebrale o di epilessia. L'uso di antibiotici in gravidanza è stato associato anche all'asma nel neonato



namente compresa, è la **sindrome di Prader-Willi**: questo disturbo neurogenetico è causato dall'alterazione di diversi geni contigui, incluso il gene MAGEL2. La sindrome di Prader-Willi presenta varie manifestazioni cliniche, tra cui scarsa capacità di suggerire e problemi di alimentazione. Usando un topo carente di MAGEL2 con mortalità neonatale del 50%, alterata insorgenza dell'attività di suzione e successiva alimentazione alterata, i ricercatori sono stati in grado di dimostrare che una singola iniezione di ossitocina sintetica, 3-5 ore dopo la nascita, è in grado di salvare i cuccioli mutanti con fenotipo MAGEL2, permettendo loro di sopravvivere. Inoltre, l'iniezione di uno specifico antagonista del recettore per l'ossitocina, nei cuccioli di tipo nativo, ha ricapitolato la carenza di alimentazione osservata nei mutanti di MAGEL2.

La somministrazione di un farmaco (in questo caso l'ossitocina sintetica) in un tempo così ricco di cambiamenti per il corpo umano, come il periodo del parto, può quindi avere effetti inattesi a breve ed a lungo termine. In soggetti predisposti e in particolari ambienti, la somministrazione di farmaci durante il travaglio e il parto può avere effetti non ancora del tutto chiariti. Alcuni studi affermano che l'ossitocina sintetica somministrata durante il travaglio potrebbe avere conseguenze negative sulla madre, ad esempio aumentando l'incidenza di emorragia materna [34].

Ciò accade perché l'ossitocina sintetica, usata per indurre o accelerare il travaglio, può desensibilizzare i recettori dell'ossitocina, compromettendo così la contrattilità uterina [35]. Inoltre è dimostrato che la somministrazione di ossitocina sintetica durante il travaglio può aumentare la prevalenza di depressione postpartum [36] e ridurre la capacità di allattamento delle donne [37]. Sono interessanti alcuni studi che dimostrano che gli effetti negativi di questo farmaco utilizzato durante il travaglio di parto sono evidenti ancora due mesi dopo il parto, portando a conseguenze imprevedibili, come allattamento non esclusivo al seno, sintomi depressivi, ansiosi e somatizzazioni [38].

Un recente studio ha evidenziato che l'ossitocina materna **modifica la relazione genitore-partner** durante il periodo di transizione perinatale [39]. Gli autori hanno analizzato i dati di uno studio longitudinale su 269 donne in cui l'ossitocina endogena è stata misurata nel plasma sanguigno durante il 1° e il 3° trimestre di gravidanza e a 7-9 settimane dopo il parto; la qualità delle relazioni tra genitori è stata valutata subito dopo il parto e due anni e mezzo dopo il parto. Dosaggi di ossitocina materna inferiori erano associati a un maggior rischio di dissoluzione della relazione con il partner durante l'infanzia del bambino. Per ogni aumento di unità standard nel livello medio di ossitocina endogena delle madri le probabilità che la relazione sopravvivesse erano 5,9 volte maggiori.

In pratica gli autori hanno dimostrato che **l'ossitocina endogena predice la sopravvivenza delle relazioni nelle coppie a lunga distanza di tempo dal parto**. Inoltre, un altro interessante studio afferma che l'analgesia epidurale, in associazione con l'infusione di ossitocina sintetica, può influenzare negativamente la produzione di ossitocina endogena [40]. Ciò che si può dedurre sarebbe semplice: più ossitocina sintetica è somministrata in travaglio, meno la puerpera è in grado di produrne nel post partum e meno ossitocina è prodotta nel post partum più è probabile che la coppia abbia problemi affettivi nel futuro. Naturalmente questo parallelismo sarebbe una riduzione semplicistica e a tutt'oggi non può essere confermato, poiché l'ossitocina è un ormone posto al centro di un complesso network ormonale che è evolutivamente arcaico [41].

Il suo effetto sul sistema relazionale e affettivo dei mammiferi dipende anche da molti altri fattori (genetici, ambientali, relazionali) e non esclusivamente dalla somministrazione di ossitocina sintetica, tuttavia questi risultati preliminari sono molto interessanti ed impongono un'ulteriore cautela nella somministrazione di ossitocina sintetica. In uno studio recente sono stati misurati i livelli salivari di ossitocina in quaranta madri a basso reddito a 34-48 mesi dopo il parto. Le diadi madre-figlio sono state osservate nella loro casa, registrando e codificando videofilmati per analizzare i comportamenti genitoriali [42]. Lo stress iniziale delle madri è stato misurato usando una opportuna scala di valutazione.

I risultati hanno mostrato che **nelle madri con una esperienza positiva del parto si registra una maggiore secrezione di ossitocina** e questa era associata ad una "genitorialità" più positiva. Al contrario nelle madri con esperienze negative al parto, la maggiore secrezione di ossitocina era associata a livelli più bassi di "genitorialità" positiva. Questo è un risultato straordinario poiché dimostra che l'ossitocina agisce con effetti diversi a seconda dei contesti e pone quindi in discussione molti risultati di studi longitudinali, seppur con campioni numerosi, che non abbiano tenuto conto del substrato differente di popolazione.

Per quanto riguarda invece l'utilizzo della terapia antibiotica in gravidanza, si può assumere che tra il 19 e il 44% delle donne ne facciano uso [43]. È dimostrato che l'uso di alcuni antibiotici durante la gravidanza aumenti il rischio di aborto spontaneo [44].

Esistono evidenze che i macrolidi prescritti in gravidanza possano aumentare il rischio di paralisi cerebrale o di epilessia [43]. L'uso di antibiotici in gravidanza è stato associato anche all'asma nel neonato [45]. Tutte queste evidenze suggeriscono quindi massima cautela prima di prescrivere un antibiotico durante la gestazione; la prescrizione di un antibiotico in gravidanza non può prescin-

dere da una attenta valutazione del rapporto costi-benefici. Un interessante studio ha dimostrato che il taglio cesareo e l'esposizione agli antibiotici nel secondo o terzo trimestre di gravidanza sono indipendentemente associati al rischio più alto di obesità infantile [46]. I risultati di questo studio sono molto interessanti, anche se non si può escludere che siano dovuti ad un'altra possibilità, ovvero che l'obesità infantile possa essere correlata non all'uso di antibiotici ma piuttosto a infezioni materne sottostanti che richiedevano l'uso di antibiotici. Sfortunatamente, la maggior parte degli studi nel campo dell'ostetricia si è concentrata sui benefici degli antibiotici e sulle complicanze materne e neonatali a breve termine e sono pochissimi gli studi che hanno preso in esame le conseguenze a lungo termine. Tuttavia l'associazione tra esposizione agli antibiotici in gravidanza e l'obesità in età infantile è stata dimostrata anche da un recente studio multicentrico [47]. È inoltre noto che l'utilizzo di antibiotici durante il periodo perinatale sia associato ad una maggiore resistenza agli antibiotici durante le infezioni batteriche gravi ad insorgenza tardiva infantile [48]. Attualmente la resistenza agli antibiotici è diventata un problema molto importante: in Italia si stima che la percentuale di E. Coli con resistenze a cefalosporine di terza generazione abbia superato il 50% [49]. Le analisi di specifici geni di resistenza agli antibiotici hanno mostrato una maggiore presenza di alcuni geni codificanti la beta-lattamasi in neonati le cui madri hanno ricevuto profilassi antibiotica intrapartum [50]. Tuttavia il vero problema non consiste nell'uso di antibiotici per la terapia di una reale malattia, perché i medici fanno scelte accurate, utilizzando un bilanciamento attento del rapporto costi/benefici. Il problema è l'uso dilagante ed eccessivo di antibiotici per la profilassi, una condizione in cui la malattia non esiste, ma lo scopo è prevenire una malattia che potrebbe apparire. Prendiamo l'esempio della profilassi dello streptococco di gruppo B. Il primo problema è lo screening e l'accuratezza del test per lo GBS. Un importante studio prospettico condotto su 559 pazienti ha dimostrato che tra le donne gravide che sono risultate negative per GBS a 35-36 settimane il 91% era ancora negativo al GBS quando il test è stato eseguito durante il travaglio. L'altro 9% è diventato GBS positivo. Questo 9% quindi non riceveva antibiotici.

Tra le donne gravide che sono risultate positive allo studio GBS a 35-36 settimane, l'84% era ancora GBS positivo quando il test è stato eseguito durante il travaglio. Tuttavia, il 16% delle persone positive al GBS è diventato GBS negativo nel momento in cui è entrato in travaglio. Questo 16% quindi ha ricevuto antibiotici non necessari [51]. Inoltre uno studio ha rilevato che un ceppo di *Enterococcus faecalis* beta-emolitico che agglutina gli antisieri del gruppo A, B, C, D, F e G di Lance-

“

Le diadi madre-figlio sono state osservate nella loro casa, registrando e codificando videofilmati per analizzare i comportamenti genitoriali. Lo stress iniziale delle madri è stato misurato usando una opportuna scala di valutazione. I risultati hanno mostrato che nelle madri con una esperienza positiva del parto si registrava una maggiore secrezione di ossitocina e questa era associata ad una "genitorialità" più positiva



field è stato isolato da un tampone rettovaginale, nel contesto dello screening prenatale per GBS. Questo ha sollevato particolare preoccupazione, in quanto potrebbe simulare il GBS portando a false segnalazioni e a somministrazione inutile di antibiotici intrapartum [52].

Oggi sarebbe possibile migliorare l'adeguatezza dello screening utilizzando tecnologie già disponibili a basso costo come il **test Xpert GBS**, che è un test rapido a reazione a catena della polimerasi (PCR) per rilevare la colonizzazione di GBS in donne che stanno per partorire [53]. Il test di Xpert GBS potrebbe essere anche utilizzato per identificare la colonizzazione di GBS all'inizio del travaglio e potrebbe potenzialmente ridurre l'uso non necessario della profilassi antibiotica intrapartum. Il test rileva il GBS da campioni di tampone vaginale e rettale combinati e i risultati sono pronti in 50 minuti o meno, rispetto a 24-48 ore per le tecniche di coltura batterica convenzionale. Le singole cartucce del test costano 38,80 sterline [54]. Si può affermare che nel caso della profilassi antibiotica intrapartum la comunità professionale e scientifica ha valutato solo i costi e i benefici a breve termine, ma sono pochi gli studi sui costi benefici a lungo termine [55].

Stanno iniziando a emergere dati importanti circa gli effetti a lungo termine della profilassi antibiotica intrapartum; in uno studio prospettico longitudinale di una coorte di 198 bambini canadesi nati nel 2010-2012, gli autori hanno valutato il microbiota intestinale infantile ed hanno scoperto che a 3 mesi il microbiota differiva significativamente a seconda delle esposizioni di profilassi antibiotica intrapartum, e le differenze persistevano a 12 mesi per i bambini nati da taglio cesareo di emergenza [56]. Le differenze di microbiota erano particolarmente evidenti in seguito alla profilassi antibiotica intrapartum nel taglio cesareo d'urgenza, con alcuni cambiamenti: aumento dei Clostridiales e diminuzione delle Bacteroidaceae, persistenti 12 mesi dopo la nascita, in particolare tra i bambini non allattati al seno. Esiste una complessa interazione tra profilassi antibiotica intrapartum, modalità di parto e successivo allattamento al seno [57].

Lo sviluppo del microbiota intestinale del bambino è un processo sequenziale, che inizia in utero e continua durante i primi 3 anni di vita. Sappiamo che il microbiota è alterato nei bambini che nascono da taglio cesareo, che sono alimentati artificialmente o che sono trattati con antibiotici, rispetto a quei bambini che sono nati per via vaginale, che sono allattati al seno o non sono stati esposti agli antibiotici.

Non conosciamo ancora il perché questi atteggiamenti possano influenzare la salute futura dei bambini. L'ecosistema dell'intestino umano consiste in trilioni di batteri che formano un bioreattore alimentato da macronutrienti alimentari per produrre composti bioattivi; stanno emergendo

prove che, attraverso il sistema di comunicazione bidirezionale tra il sistema nervoso centrale e il tratto gastrointestinale, il microbioma intestinale possa anche influenzare lo sviluppo neurale, la cognizione e il comportamento [58]. Inoltre, l'uso intrapartum di antibiotici è associato alla esofagite eosinofila pediatrica [59], ed è considerato anche un potenziale fattore di rischio per lo sviluppo della malattia infiammatoria intestinale [60]. Diversi modelli animali hanno dimostrato che l'ambiente della prima infanzia influisce sullo sviluppo del tratto gastrointestinale [61]. Non esistono prove convincenti di benefici per madri o neonati derivanti dall'uso routinario di antibiotici per la PROM. La Cochrane recita: *“Dati i potenziali effetti collaterali non misurabili dell'uso di antibiotici, il potenziale per lo sviluppo di organismi resistenti e il basso rischio di infezione materna nel gruppo di controllo, l'uso routinario di antibiotici per la PROM, in assenza di infezione materna, deve essere evitato”* [62]. Solo nelle donne con latenza più lunga di 12 ore, gli antibiotici, somministrati profilatticamente, sono associati a tassi significativamente più bassi di corioamniosite del 51% e di endometrite dell'88% [63].

Le attuali evidenze non consentono di trarre conclusioni definitive sulla profilassi antibiotica per GBS; una review del 2017 riporta che *“nonostante un'ampia serie di eventi avversi riportati in 17 studi osservazionali e 13 studi randomizzati controllati, l'evidenza era incoerente e ad alto rischio di bias”* [64]. Tuttavia, i numerosi effetti collaterali osservati a breve termine, e soprattutto l'associazione con un microbioma neonatale alterato e il conseguente probabile sviluppo di malattie in futuro, dovrebbero suggerire l'adozione del principio di precauzione: è opportuno somministrare la profilassi antibiotica solo in caso di positività per il GBS, ovviamente avendo usato un metodo efficace per il suo rilevamento, o in caso di PROM superiore alle 12 ore [65].

Allattamento al seno

L'ALLATTAMENTO AL SENO è associato a benefici per la salute non solo nell'infanzia ma anche nell'età adulta. Nei bambini allattati al seno vi è una riduzione dell'incidenza di infezioni del tratto gastrointestinale, del tratto respiratorio e sono descritti anche effetti protettivi contro le malattie croniche come la celiachia, il diabete, l'obesità e le malattie infiammatorie croniche dell'intestino. **L'allattamento al seno comporta benefici anche nell'età adulta** perché è associato ad un minor rischio di sviluppare diabete di tipo 2, ipertensione, ipercolesterolemia, osteoporosi ed alcuni tipi di cancro [66-69]. L'allattamento al seno comporta effetti positivi sul neurosviluppo e sulle abilità cognitive in quanto i nutrienti nel latte materno non hanno una funzione esclusivamen-

“

Lo sviluppo del microbiota intestinale del bambino è un processo sequenziale, che inizia in utero e continua durante i primi 3 anni di vita. Sappiamo che il microbiota è alterato nei bambini che nascono da taglio cesareo, che sono alimentati artificialmente o che sono trattati con antibiotici, rispetto a quei bambini che sono nati per via vaginale, che sono allattati al seno e non sono stati esposti agli antibiotici

te nutritiva. Gli studi di biologia molecolare hanno dimostrato che i nutrienti possono modificare, direttamente o indirettamente, attraverso gli ormoni, l'espressione di molti geni [70]. In definitiva, **il latte materno è uno dei più importanti fattori epigenetici dopo la nascita**, essendo in grado di influenzare l'espressione genica e quindi anche il fenotipo. Il latte materno è in grado di modulare diverse funzioni fisiologiche e la protezione del neonato contro varie malattie. Ad esempio, per quanto riguarda l'obesità, uno studio ha valutato come l'allattamento al seno è in grado di contrastare gli effetti dannosi del polimorfismo del gene PPARG2 sugli adolescenti [71]. L'allattamento al seno è un fattore protettivo anche nei confronti dell'otite media [72]. Infine l'allattamento al seno è un fattore protettivo per lo sviluppo di molte malattie anche nella madre [73].

Modalità del parto

IL TAGLIO CESAREO può ridurre efficacemente la mortalità e la morbilità materna e perinatale se viene eseguito a causa di precise indicazioni mediche, ma non ci sono prove scientifiche che dimostrino i benefici del cesareo per madri e neonati quando non c'è giustificazione clinica [74]. Al contrario, è stato dimostrato che il taglio cesareo aumenta le morti materne, la morbilità materna, l'isterectomia peripartum, i ricoveri ospedalieri durante il puerperio, l'embolia del liquido amniotico e la malposizione placentare durante le successive gravidanze [75, 76]. Se consideriamo la salute neonatale, il taglio cesareo aumenta le lacerazioni iatrogene perinatali, i disturbi respiratori, rende più difficile l'adattamento cardiovascolare neonatale, riduce la probabilità di allattamento al seno, aumenta la probabilità di anemia, asma, laringite, gastroenterite, colite ulcerosa, celiachia, infezioni del tratto respiratorio inferiore, artrite giovanile idiopatica, morte, obesità, diabete di tipo 1, sindrome metabolica, cancro e leucemia [77-81].

Uno dei fattori più importanti per spiegare le suddette malattie è probabilmente la mancanza di “contaminazione batterica” attraverso il canale del parto [82].

Un numero sempre maggiore di evidenze ha dimostrato che la colonizzazione del primo microbiota esercita una forte influenza sullo stato di salute dell'individuo [83], ma sicuramente questo non è l'unico meccanismo che agisce. Infatti, nei parti cesarei di neonati che sono stati esposti al travaglio molti degli effetti negativi a lungo termine precedentemente descritti sono molto meno pronunciati o addirittura assenti [84]. Il fatto che una donna possa aver o meno travagliato, prima di eseguire un taglio cesareo, può cambiare l'atteggiamento e la risposta agli agenti esterni del sistema immunitario del neonato.

“

Le convinzioni, la cultura e l'educazione degli operatori possono modificare i risultati relativi al parto, con conseguenti effetti importanti sulla salute a lungo termine del neonato e della madre



“

L'allattamento al seno comporta effetti positivi sul neurosviluppo e sulle abilità cognitive in quanto i nutrienti nel latte materno non hanno una funzione esclusivamente nutritiva



“

Cosa desiderano le donne? Un'esperienza positiva, che ha soddisfatto o superato le loro precedenti convinzioni personali e socioculturali e le loro aspettative

Il travaglio, soprattutto dopo la PROM, può determinare un'esposizione diversa a specifici microorganismi e questo porta nel neonato ad un aumento del numero di neutrofili e di cellule natural-killer, ad un aumento dei livelli di IL-13 e INF-gamma e IL-20. La diminuzione di questi fattori, come nel taglio cesareo elettivo, può alterare il rapporto Th1/ Th2, con conseguente maggiore rischio di sviluppare malattie immunologiche [85]. I cuccioli di ratto nati da taglio cesareo dimostrano cambiamenti a lungo termine nei livelli di dopamina, nel metabolismo nel nucleo accumbens e nella corteccia prefrontale [86]. La somministrazione di adrenalina ai ratti nati da cesareo, impedisce questi cambiamenti neurologici a lungo termine [87].

Il travaglio e il parto non sono semplici eventi meccanici, al contrario essi rappresentano un meccanismo altamente raffinato, che si è evoluto in milioni di anni di competizione attraverso mutazioni selettive per assicurare la salute futura di coloro che riescono ad attraversare il canale del parto, che rappresenta sicuramente l'evento a maggior rischio di tutta la nostra esistenza. I principali meccanismi attraverso i quali tutto ciò avviene sono: picchi ormonali o risposta allo stress associata al parto vaginale, trasferimento del microbioma materno al bambino durante il parto e trasmissione transgenerazionale dei tratti della malattia/salute attraverso l'epigenetica [88]. Tutti gli interventi al parto devono essere valutati secondo un principio ben preciso: "primum non nocere". Semplicemente perché il taglio cesareo è una procedura relativamente sicura, le potenziali conseguenze a lungo termine non possono essere ignorate. **Le interazioni che si verificano al momento della nascita sono molto complesse e solo di recente i ricercatori hanno iniziato a chiarirle. Ad esempio, l'alimentazione interagisce in modo strutturato con la modalità del parto. Elevati livelli di Streptococco sono presenti nelle feci di bambini le cui madri consumano elevate quantità di pesce e frutti di mare, se nati da parto spontaneo, viceversa si trovavano bassi livelli di Clostridium neonatale, se nati da taglio cesareo. L'elevato consumo di frutta nelle madri è associato a bassi livelli di Bifidobacterium nel caso di parto vaginale e a livelli elevati di quest'ultimo se la madre consuma grandi quantità di carne rossa e la nascita avviene tramite taglio cesareo [89]. Alcuni recenti studi hanno associato la modalità del parto anche in relazione con le capacità scolastiche degli adolescenti [90]. Questi autori, analizzando una corte di 1,489,925 nati, estratti dallo Swedish Medical Birth Register and National School Register, sono stati capaci di dimostrare, utilizzando la regressione logistica, una lieve associazione tra la nascita con taglio cesareo e la performance scolastica. Il taglio cesareo elettivo è stato associato ad una diminuzione del punteggio di 1-3 punti, laddove il**

taglio cesareo d'emergenza è stato associato ad una diminuzione di punteggio di 2-5 punti. Naturalmente questi risultati, nonostante l'elevato numero di individui coinvolti, sono da considerarsi assolutamente preliminari e necessitano di ulteriori conferme. Gli stessi autori sono consapevoli che: *"the effect was quite small and given the complex nature of the relationship, should be interpreted with caution"*.

Stili di assistenza

È DIMOSTRATO che le madri di topi che ricevono più cure parentali (buone capacità genitoriali) danno alla luce una prole capace di una maggiore cura genitoriale, viceversa le madri che si occupano poco (scarse abilità genitoriali) dei loro cuccioli daranno origine ad una prole a sua volta anaffettiva. Si tratta della trasmissione di un comportamento; questa trasmissione può essere completamente capovolta se il cucciolo nato da una madre poco premurosa è affidato a una madre molto premurosa, il comportamento del cucciolo sarà quello della madre cui è stato affidato, dimostrando quindi che l'acquisizione di questo tratto comportamentale è acquisita e non genetica [91]. I cuccioli di topo, infatti, se esposti a "buone cure" ridurranno i processi di metilazione del DNA in una particolare posizione del loro codice genetico. Questa modifica viene attivata immediatamente dopo la nascita e persiste per tutta la vita [92].

I topi che vengono curati dalla madre reagiscono bene allo stress: sono in grado di attivare l'asse ipotalamico-ipofisi-surrene (HPA) e la successiva produzione di corticosteroidi. Il bilanciamento dell'asse HPA fa sì che i corticosteroidi inibiscano gli ormoni ipotalamici e impediscano che un eccesso di questi possa influenzare il sistema im-

munitario. Ciò che determina questo equilibrio è il numero di recettori per i glucocorticoidi nell'ipotalamo, determinato da fattori genetici ed epigenetici, da cui dipenderà la salute futura del topo per tutta la sua vita [93]. Per analogia, è opportuno che le madri e i bambini stiano in contatto diretto almeno per le prime 1-2 ore dopo la nascita. Nel cosiddetto *pele a pele*, il bambino è nudo e viene posto sul petto nudo della madre, tra i suoi seni. I benefici di tale cura possono persistere per anni [94]. Questi pochi esempi mostrano quali opportunità hanno le ostetriche quando assistono un parto, essi vanno ben oltre il singolo momento. Infatti, durante i primi momenti della vita molte sequenze nucleotidiche sono attivate e disattivate, le modalità con cui questo processo ha luogo determineranno conseguenze a lungo termine. **Un esempio affascinante è quello che si verifica variando il tempo di clampaggio del cordone ombelicale alla nascita (CC).** Randomizzando i neonati da gravidanza normale in due gruppi: clampaggio ritardato (≥ 180 secondi dopo il parto) o clampaggio precoce (≤ 10 secondi dopo il parto), i ricercatori svedesi hanno scoperto che a 4 anni di età, i bambini che avevano goduto di un clampaggio ritardato, specialmente i maschi, avevano abilità motorie e sociali migliori degli altri, indicando che l'ottimizzazione del tempo di CC può influenzare il neurosviluppo a lungo termine in una popolazione a basso rischio di bambini nati in una nazione ad alto reddito [95].

La moda (modalità di assistenza) del reparto in cui avviene la nascita

COSA DESIDERANO le donne? Un'esperienza positiva, che ha soddisfatto o superato le loro precedenti convinzioni personali e socioculturali e



le loro aspettative. Ciò include la nascita di un bambino in un ambiente clinicamente e psicologicamente sicuro, con supporto pratico ed emotivo da parte di chi le accompagna in questo particolare momento e da parte del personale clinico competente [96]. Tuttavia, non dovremmo pensare che tutto ciò sia "solo" il desiderio delle donne e dei loro compagni; viceversa, partorire in un luogo in cui gli operatori cercano di soddisfare tali desideri ha effetti significativi sull'esito del parto e, in definitiva, sul futuro della salute neonatale e materna. L'atteggiamento di predisposizione nei confronti del taglio cesareo [97] e dell'episiotomia [98] per esempio, conduce a differenze altamente significative in termini di tassi di tagli cesarei ed episiotomie: è ampiamente dimostrato che tali differenze non siano dovute solo a popolazioni diverse, ma, soprattutto, alla diversa cultura degli operatori [99-100].

L'atteggiamento nei confronti del parto operativo vaginale si presta bene ad esemplificare l'importanza dei fattori culturali degli operatori nel determinare differenti approcci al parto. Le percentuali di parto vaginale operativo mostrano un'ampia variazione geografica. I tassi medi attualmente riportati sono del 10-15% negli Stati Uniti [101]. Nel Regno Unito, le percentuali oscillano tra il 10% e il 13% negli ultimi anni [102]. Negli Stati Uniti si osserva una relazione lineare inversa tra l'uso del parto operativo vaginale e il taglio cesareo [101]. L'uso di tecniche operative vaginali è storicamente molto meno frequente in Italia, sebbene con percentuali che variano notevolmente a seconda degli ospedali. In Italia, al contrario di ciò che avviene negli USA, i luoghi di parto che hanno un approccio meno interventistico hanno, in genere, una percentuale minore di tagli cesarei e anche minori tassi di parto operativo vaginale (103).

È una cultura diffusa in alcuni dipartimenti ospedalieri, che presuppone la capacità delle donne di partorire spontaneamente nella maggior parte dei casi, se assistite con arte e con empatia dal personale. Come abbiamo visto in questa breve rassegna, le convinzioni, la cultura e l'educazione degli operatori possono modificare i risultati relativi al parto, con conseguenti effetti importanti sulla salute a lungo termine del neonato e della madre. Ciò che è stato detto apre grandi opportunità educative, da mettere in atto nelle equipe che assistono al parto. Sfortunatamente, a nostra conoscenza, non ci sono stati studi randomizzati controllati o trial randomizzati a cluster che hanno valutato gli esiti perinatali a lungo termine in relazione allo stile di cura degli operatori durante il parto. Non ci sono prove sufficienti per valutare l'efficacia delle strutture di maternità e l'attitudine degli operatori nel migliorare gli esiti materni e neonatali nel lungo termine, tuttavia anche questo potrebbe essere un campo di studi molto promettente.

CONCLUSIONI

Studi recenti suggeriscono che non solo i genitori possono modellare la salute dei neonati, ma anche le modalità, i luoghi della nascita e lo stile assistenziale possono svolgere un ruolo molto importante nel determinare la salute futura della diade materna e fetale.

IL MECCANISMO attraverso cui i cambiamenti nell'assistenza durante il periodo della nascita determinano cambiamenti a lungo termine nella salute del nascituro potrebbe essere mediato dalla risposta alle perturbazioni stocastiche, che possono essere mutate, incentivate o ridotte dagli interventi durante il parto. Elisabet Pujadas e Andrew P. Feinberg [20] hanno descritto un interessante modello partendo dall'originale e primigenio modello di Waddington. Tuttavia Waddington leggeva il paesaggio epigenetico in modo deterministico; nel suo modello i cambiamenti erano sempre determinati dai geni. Il modello proposto da Elisabet Pujadas e Andrew P. Feinberg è interessante poiché gli autori sostengono che: *"the stochastic part of the function is regulated by the developmental state of the cell, and it also depends on the cell's microenvironment when it is in that particular developmental state. This means that the epigenome can developmentally regulate the degree to which external (environmental) noise can influence its own landscape and can explain in a theoretical way the high frequency of transitions arising normally during development and disease..."*.

In questo modo l'eterogeneità fenotipica non genetica, che accade per caso, potrebbe evolversi, per selezione artificiale indotta, verso una differente distribuzione di fenotipi. Qualora confermato, questo modello si presterebbe perfettamente a spiegare perché le modificazioni indotte dall'assistenza durante il parto possono condurre a modificazioni della vita dell'individuo, nel lungo termine. I mal adattamenti subiti durante la nascita possono stabilire punti di regolazione, per una traiettoria di sviluppo che condurrà alle future patologie. Diventa di fondamentale importanza che le equipe che assistono il parto tengano conto di questo concetto e di

conseguenza si preoccupino non solo della salute a breve termine, ma anche di come i gesti essenziali, eseguiti durante l'assistenza al parto, influenzino la vita futura del bambino e della madre e la loro salute a lungo termine.

È intuitivo che un organismo sia fortemente influenzato dai messaggi che riceve nella vita intrauterina. Questi messaggi ambientali sono gli strumenti che permettono al nuovo organismo di affrontare l'ambiente esterno, soprattutto nel momento di "rivoluzione" che è la nascita, ovvero l'istante in cui smettiamo di vivere in ambiente acquatico per passare alla vita esterna, dove l'ossigeno va guadagnato respirando.

«Ogni giorno nel mondo nascono 400 mila bambini. Nessuno di loro sceglie il genere, l'appartenenza etnica, il luogo in cui si è venuti al mondo. Né le condizioni economiche e sociali della famiglia. Il punto di partenza della vita è una lotteria» [104].

Così scrive la Banca mondiale nel rapporto che descrive la mobilità tra generazioni nel mondo. Alla nascita cambia tutto: la circolazione ematica, la luce, la gravità, l'alimentazione, etc. La modalità della nascita è fortemente condizionata dalla cultura e dalla pratica del luogo in cui si nasce. Nella lotteria della nascita noi abbiamo un potere. La consapevolezza di questo potere e delle possibili implicazioni nella vita futura degli organismi, dovrebbe guidare tutte le nostre scelte. Anche perché, maggior salute per i singoli organismi adulti significa maggior salute del sistema, riduzione dei costi per l'assistenza medica e la possibilità di estendere le cure utili ad una porzione sempre maggiore della popolazione mondiale.

La conoscenza, la condivisione delle evidenze, il rispetto e l'empatia, sono gli strumenti che ci possono guidare per fare il meglio possibile in sala parto.

BIBLIOGRAFIA

- [1] <https://en.oxforddictionaries.com/definition/environment>.
- [2] <https://www.dictionary.com/browse/imprinting>.
- [3] J. M. Rice, «Perinatal Period and Pregnancy: Intervals of High Risk for Chemical Carcinogens», *Environmental Health Perspectives*, vol. 29, pagg. 23-27, 1979.
- [4] D. P. Barlow e M. S. Bartolomei, «Genomic imprinting in mammals.», *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 6, n. 2, feb. 2014.
- [5] N. M. Springer e K. M. McGinnis, «Paramutation in evolution, population genetics and breeding.», *Semin. Cell Dev. Biol.*, vol. 44, pagg. 33-38, ago. 2015.
- [6] P. A. Steffen e L. Ringrose, «What are memories made of? How Polycomb and Trithorax proteins mediate epigenetic memory.», *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 15, n. 5, pagg. 340-356, mag. 2014.
- [7] G. Csaba, «The Present and Future of Human Sexuality: Impact of Faulty Perinatal Hormonal Imprinting.», *Sex. Med. Rev.*, vol. 5, n. 2, pagg. 163-169, apr. 2017.
- [8] A. C. Beckstrom, P. Tanya, E. M. Humston, L. R. Snyder, R. E. Synovec, e S. E. Juul, «The perinatal transition of the circulating metabolome in a nonhuman primate.», *Pediatr. Res.*, vol. 71, n. 4 Pt 1, pagg. 338-344, apr. 2012.
- [9] R. E. Mohler, B. P. Tu, K. M. Dombek, J. C. Hoggard, E. T. Young, e R. E. Synovec, «Identification and evaluation of cycling yeast metabolites in two-dimensional comprehensive gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry data.», *J. Chromatogr. A*, vol. 1186, n. 1-2, pagg. 401-411, apr. 2008.
- [10] E. M. Humston, K. M. Dombek, J. C. Hoggard, E. T. Young, e R. E. Synovec, «Time-Dependent Profiling of Metabolites from Snf1 Mutant and Wild Type Yeast Cells.», *Anal. Chem.*, vol. 80, n. 21, pagg. 8002-8011, nov. 2008.
- [11] C. P. Downes e A. N. Carter, «Inositol lipids and phosphates.», *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 2, n. 2, pagg. 185-191, apr. 1990.
- [12] Meloni A. et al., «PROM and Labour Effects on Urinary Metabolome: A Pilot Study.», *Dis. Markers*, vol. 2018, pag. 9.
- [13] E. M. Rehbinder et al., «Is amniotic fluid of women with uncomplicated term pregnancies free of bacteria?», *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 219, n. 3, pagg. 289.e1-289.e12, set. 2018.
- [14] K. Aagaard, J. Ma, K. M. Antony, R. Ganu, J. Petrosino, e J. Versalovic, «The Placenta Harbors a Unique Microbiome.», *Sci. Transl. Med.*, vol. 6, n. 237, pagg. 237ra65-237ra65, mag. 2014.

