

# METABOLISMO DELL'OMOCISTEINA E RISCHIO DI RITARDATA CRESCITA FETALE INTRAUTERINA

Maddalena L Zighetti, Marco Cattaneo

Unità di Ematologia e Trombosi

Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria

Ospedale San Paolo, Università di Milano

Indirizzo per corrispondenza: Prof. Marco Cattaneo

Unità di Ematologia e Trombosi, Università di Milano

Via di Rudini, 8 - 20142 Milano - tel: 02 81844638; fax: 0250323095; e-mail: marco.cattaneo@unimi.it

## ABSTRACT

Recent studies showed that there is an association between thrombophilic syndromes due to abnormalities of the hemostatic system and pathologic pregnancies. A very important intervention study demonstrated the protective effect of a low molecular weight heparin, compared to aspirin, in the prevention of stillbirth and abortion in women with thrombophilia and previous abnormal pregnancies, suggesting that the association of thrombophilia with abnormal pregnancies is causal. Other studies evaluated the association of abnormalities of folic acid and homocysteine metabolism with pathologic pregnancies. If it is clear that such abnormalities are associated with a higher risk for neural tube defects, which is reduced by the administration of folic acid, the association of hyperhomocysteinemia with other abnormal pregnancies is unclear. Therefore, we think that there is not enough evidence to recommend homocysteine plasma levels measurement in pregnant women.

**Key words:** *folic acid, omocisteina, pregnancy, thrombophilia, heparin.*

## RIASSUNTO

Studi recenti hanno dimostrato un'associazione tra sindromi trombofiliche causate da anomalie del sistema emostatico e patologie della gravidanza. Un importante studio ha dimostrato l'effetto protettivo della profilassi con eparina a basso peso molecolare, rispetto a quella con aspirina, suggerendo che l'associazione tra trombofilia e patologie della gravidanza è causale. Altri studi hanno valutato l'associazione tra patologie del metabolismo dell'acido folico e dell'omocisteina e patologie della gravidanza. Se è chiaro che alterazioni del metabolismo dell'acido folico che comportano iperomocisteinemia determinano un aumento significativo del rischio di spina bifida, correggibile con la somministrazione precoce alle gravide di acido folico, l'associazione tra iperomocisteinemia e altre patologie della gravidanza non è chiara. Riteniamo pertanto che al momento attuale non sia giustificato il monitoraggio dei livelli pla-

smatici di tHcy nelle donne gravide.

**Parole chiave:** *acido folico, omocisteina, gravidanza, trombofilia, eparina.*

## INTRODUZIONE

Negli ultimi anni l'obiettivo di molti studi è stato quello di valutare l'eventuale associazione di stati trombofilici acquisiti o congeniti, che predispongono ad occlusioni vascolari trombotiche, con il rischio di eclampsia, distacco placentare, ritardata crescita intrauterina (IUGR), aborto e mortalità fetale (1). Il razionale di questi studi era basato sull'ipotesi che nelle donne trombofiliche si verifici la formazione di trombi nella circolazione placentare, con conseguente difettosa nutrizione fetale. A supporto di tale ipotesi stavano i risultati di studi che avevano documentato la presenza di lesioni trombotiche nella placenta di donne con complicanze ostetriche, anche se questi risultati non erano stati confermati da altre pubblicazioni (2-4).

Studi epidemiologici sulla prevalenza di alterazioni trombofiliche in donne con patologie della gravidanza hanno dato risultati non univoci, a causa del numero spesso insufficiente di soggetti arruolati (5-10). Una recente metanalisi ha dimostrato che la resistenza alla proteina C attivata (APCR) con o senza la mutazione del fattore V Leiden, la mutazione G20210A del gene codificante la protrombina e la carenza di proteina S si associano a un aumentato rischio di patologie della gravidanza (11). L'associazione tra sindrome da anticorpi anti-fosfolipidi e patologie della gravidanza è nota (12). Il ruolo della carenza di proteina C e della carenza di antitrombina rimane incerto per il numero relativamente ridotto di studi e di soggetti arruolati (11). Uno studio recente ha dimostrato che la profilassi con l'eparina a basso peso molecolare enoxaparina, rispetto a quella con aspirina, riduce significativamente il numero di aborti e morti intrauterine in donne trombofiliche con precedenti patologie della gravidanza e, nelle gravidanze a termine, aumenta significativamente il peso dei neonati (13). L'effetto dell'enoxaparina era evidente indipendentemente dalla condizione trombofilica delle gravide: fattore V Leiden, mutazione G20210A della protrombina, carenza di

proteina S. Questo studio di fondamentale importanza conforta l'ipotesi che esista un'associazione tra sindromi trombofiliche ed un aumentato rischio di patologie della gravidanza e che tale associazione sia molto probabilmente causale.

Il ruolo nelle patologie della gravidanza di un'altra frequente condizione trombofilica, l'iperomocisteinemia, è tuttora poco chiaro e rappresenta il soggetto di questa brevissima rassegna.

## OMOCISTEINA E IPEROMOCISTEINEMIA

L'omocisteina (Hcy) è un aminoacido solforato, che si forma durante la conversione metabolica dell'aminoacido essenziale metionina. La Hcy può essere trans-sulfurata irreversibilmente a cistationina e quindi a cisteina, oppure rimetilata a metionina. Queste vie metaboliche necessitano di vitamine (riboflavina, acido folico, vitamina B<sub>12</sub> e vitamina B<sub>6</sub>) come co-substrati o co-enzimi (14). La Hcy è presente nel plasma in forma libera, ossidata e legata alle proteine; ci si riferisce all'insieme di queste forme di Hcy con il termine omocisteina totale plasmatica (tHcy).

L'iperomocisteinemia lieve o moderata (livelli basali di tHcy compresi fra 15-100 µmol/L) è causata sia da condizioni acquisite, quali la carenza di vitamine del gruppo B e l'insufficienza renale, che da difetti genetici, responsabili di una riduzione di circa il 50% dell'attività degli enzimi predisposti al suo metabolismo (14-16). In particolare, una comune variante del gene che codifica per l'enzima 5,10-metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR), risultante da una sostituzione di una C con una T nel nucleotide 677 del gene codificante, favorisce sviluppo di iperomocisteinemia, specialmente in individui in cui l'assunzione di acido folico è inadeguata (15-17). Questo polimorfismo genetico è responsabile, della variante termolabile dell'enzima MTHFR, così denominata per la sua aumentata sensibilità in vitro alle elevate temperature. L'enzima MTHFR catalizza la riduzione del 5, 10-metilentetraidrofolato a 5-metiltetraidrofolato, che genera la forma attiva di folato richiesta per la rimetilazione dell'omocisteina a metionina (18). Recenti metanalisi hanno dimostrato che la variante C677T del MTHFR si associa a un aumentato rischio di trombosi sia arteriose che venose, confortando l'ipotesi che l'associazione tra iperomocisteinemia e queste patologie trombotiche sia causale (19-20). Tuttavia, la definitiva dimostrazione del rapporto di causalità tra iperomocisteinemia e patologie trombotiche potrà essere fornita solamente dai risultati di sperimentazioni cliniche controllate che valutano l'effetto della somministrazione di vitamine sulla riduzione dell'omocisteinemia plasmatica e delle ricidive di eventi trombotici in pazienti a rischio.

## IPEROMOCISTEINEMIA, VARIANTE 677T DEL MTHFR E PATOLOGIE DELLA GRAVIDANZA

Nonostante l'associazione causale tra difetti del metabolismo dei folati, che comportano iperomocisteinemia, e rischio di spina bifida sia ben documentato (16-21), l'associazione tra iperomocisteinemia ed altre patologie della

gravidanza ancora non è del tutto chiara.

Hibbard e Hibbard (22, 23) per primi posero l'attenzione sul possibile ruolo dell'acido folico nella patogenesi del distacco di placenta, mediato probabilmente dall'aumento dei livelli plasmatici di omocisteina (24).

Uno studio caso-controllo di grandi dimensioni (493 casi e 472 controlli) di Infante-Rivard et al (25), che aveva dimostrato la mancata associazione tra fattore V Leiden o mutazione della protrombina e ritardata crescita fetale intrauterina, aveva preso in considerazione, tra le possibili cause di ritardata crescita fetale, anche due comuni polimorfismi genetici responsabili della riduzione dell'attività dell'enzima MTHFR, 1298C e 677T, che, come detto, predispongono all'iperomocisteinemia.

Lo studio dimostrò che le madri portatrici omozigoti della variante 1298C del MTHFR avevano un basso rischio di avere un bambino con IUGR (OR, 0.49; 95% CI, 0.25-0.93), mentre le madri portatrici omozigoti della variante 677T del MTHFR e che non avevano assunto vitamine del gruppo B durante il terzo trimestre di gravidanza presentavano un aumentato rischio di avere bambini con IUGR (OR, 12.3; 95% CI, 1.2-126.2). L'osservazione che i neonati portatori omozigoti della variante 1298C MTHFR avevano un normale rischio di IUGR, mentre neonati omozigoti per la variante 677T MTHFR erano protetti da IUGR (OR, 0.52; 95% CI, 0.29-0.94) rese ancor più problematici i tentativi di interpretazione dei dati di questo studio, i cui dati incongrui sono così riassumibili: varianti dell'enzima MTHFR, predisponenti a lieve iperomocisteinemia, si associano sia ad un alto che ad un basso rischio di IUGR. Purtroppo, il dosaggio delle concentrazioni di omocisteina plasmatica totale (tHcy), che avrebbero potuto chiarire il problema, non era stato eseguito.

In uno studio successivo, Infante-Rivard et al. (26) hanno eseguito il dosaggio di tHcy nel sangue di 483 madri con bambini con IUGR e 468 madri di controllo, e nel cordone ombelicale di 409 neonati con IUGR e 438 neonati di controllo, attinti dalla stessa popolazione precedentemente studiata. L'ipotesi di lavoro era che elevati livelli plasmatici di omocisteina nelle madri e nei neonati potessero incrementare il rischio di IUGR attraverso trombosi placentare, indipendentemente dai polimorfismi del MTHFR. I risultati del nuovo studio di Infante-Rivard et al. (26) hanno mostrato che, contrariamente all'ipotesi di lavoro, vi è una associazione inversa fra i livelli di tHcy ed il rischio di IUGR. Per un aumento di 5 µmol/L di tHcy nel plasma materno, la OR stimata per IUGR era 0.37 (95% CI, 0.24-0.58), e l'aumento del peso del nascituro stimato era 178.1 g (95% CI, 92.5-263.7 g). Risultati simili sono stati ottenuti quando è stata valutata la concentrazione di tHcy nei neonati.

La negazione dell'ipotesi di lavoro degli autori che elevati livelli di tHcy si associano ad un aumentato rischio di IUGR non sorprende. Tale ipotesi era basata sull'assunzione che la IUGR è associata alla trombosi dei vasi placentari e, conseguentemente, ai fattori di rischio di trombosi. Tuttavia, gli stessi autori utilizzando la stessa popolazione di casi e controlli, aveva precedentemente negato l'esistenza di un'associazione tra IUGR e sindromi trombofiliche

(25). Inoltre, è importante sottolineare che le concentrazioni di tHcy erano largamente inferiori rispetto alla concentrazione limite spesso usata per definire l'iperomocisteinemia (15  $\mu\text{mol/L}$ ) nella popolazione generale (la media dei valori fra le madri ed i nati con IUGR, era 5.59 ed era 5.06 fra le madri ed i nati di controllo).

L'effetto protettivo degli elevati livelli di tHcy nei confronti della IUGR, evidenziato nell'ultimo studio di Infante-Rivard et al, è difficilmente spiegabile. I livelli plasmatici di Hcy sono influenzati da numerose variabili, incluse le abitudini alimentari. Le abitudini alimentari sono importanti per lo sviluppo del feto (27-29). Non è pertanto improbabile che una dieta materna che favorisce lo sviluppo del suo feto, predisponga ad un accumulo relativamente elevato di omocisteina plasmatica.

## CONCLUSIONI

Studi recenti hanno dimostrato un'associazione tra sindromi trombofiliche e patologie della gravidanza. Un importante studio ha dimostrato l'effetto protettivo della profilassi con eparina a basso peso molecolare, suggerendo che l'associazione tra trombofilia e patologie della gravidanza è causale. Se è chiaro che alterazioni del metabolismo dell'acido folico che comportano iperomocisteinemia comportano un aumento significativo del rischio di spina bifida, correggibile con la somministrazione precoce alle gravide di acido folico, l'associazione tra iperomocisteinemia e altre patologie della gravidanza non è chiara. Riteniamo pertanto che al momento attuale non sia giustificato il monitoraggio dei livelli plasmatici di tHcy nelle donne gravide.

## BIBLIOGRAFIA

1. Roberts D, Schwartz RS. Clotting and hemorrhage in the placenta-a delicate balance. *N Engl J Med* 2002; 347:57-9.
2. Mousa HA, Alfrevic Z. Do placental lesions reflect thrombophilia state in women with adverse pregnancy outcome? *Hum Reprod* 2000; 15:1830-33.
3. Many A, Schreiber L, Rosner S, et al. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstet Gynecol* 2001; 98:1041-4.
4. Sikkema JM, Franx A, Bruinse HW, et al. Placental pathology in early onset pre-eclampsia and intra-uterine growth restriction in women with and without thrombophilia. *Placenta* 2002; 23:337-42.
5. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340:9-13.
6. Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. *Thromb Haemost* 1999; 82:634-40.
7. Martinelli P, Grandone E, Colaizzo D, et al. Familial thrombophilia and the occurrence of fetal growth restriction. *Haematologica* 2001; 86:428-31.
8. Infante-Rivard C, Rivard GE, Yotov WV, et al. Absence of Association of Thrombophilia Polymorphisms with Intrauterine Growth Restriction. *N Engl J Med* 2002; 347:19-25.
9. Roque H, Paidas MJ, Funai EF, et al. Maternal thrombophilias are not associated with early pregnancy loss. *Thromb Haemost* 2004; 91:290-5.
10. Brenner B, Kupferminc MJ. Inherited thrombophilia and poor pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17:427-39.
11. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet* 2003; 361:901-8.
12. Khare M, Nelson-Piercy C. Acquired thrombophilias and pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2003; 17:491-507.
13. Gris J-C, Mercier E, Quére I, et al. Low molecular weight heparin versus low-dose aspirin in women with one fetal loss and a constitutional thrombophilic disorder. *Blood* (prepublished online January 22, 2004)
14. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost* 1999; 81:165-76.
15. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10:111-3.
16. Van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 1998; 62:1044-51.
17. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996; 94:2410-6.
18. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann, et al. Molecular biology of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nutrition* 2000; 130:20-33.

19. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, et al. MTHFR C677T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288:2023-31.
20. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325:1202.
21. Gos M Jr, Szpecht-Potocka A. Genetic basis of neural tube defects. II. Genes correlated with folate and methionine metabolism. *J Appl Genet.* 2002; 43:511-24.
22. Hibbard BM, Hibbard ED. Aetiologic factors in abruptio placentae. *Br Med J* 1963; 2:1431-6.
23. Hibbard BM. The role of folic acid in pregnancy, with particular reference to anaemia, abruption and abortion. *J Obstet Gynaecol Br Commonwealth* 1964; 71:529-42.
24. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Trijbels JMF, et al. Hyperhomocysteinaemia and recurrent spontaneous abortion or abruptio placentae. *Lancet* 1992; 1:1122-3.
25. Infante-Rivard, Rivard GE, Yotov WV, et al. Absence of association of thrombophilia polymorphisms with intrauterine growth restriction. *N Engl J Med* 2002; 347:19-25.
26. Infante-Rivard C, Rivard GE, Gauthie R, et al. Unexpected relationship between plasma homocysteine and intrauterine growth restriction. *Clin Chem* 2003; 49:1476-82.
27. World Health Organization. *Maternal anthropometry and pregnancy outcomes: a WHO collaborative study.* Basel, Switzerland: World Health Organization, 1995.
28. Kramer MS. *Balanced protein/energy supplementation in pregnancy.* Oxford: the Cochrane Library, 2002.
29. Fall CH, Yajnik CS, Rao S et al. Micronutrients and fetal growth. *J Nutr* 2003; 133(S2):1747S-56S.