



*Azienda Ospedaliera Nazionale  
SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo  
Alessandria*

# **Working Paper of Public Health**

## **Nr. 11/2014**



La serie di *Working Paper of Public Health* (WP) dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria è una serie di pubblicazioni *online* ed *Open Access*, *progressiva* e *multi disciplinare* in *Public Health* (ISSN: 2279-9761). Vi rientrano pertanto sia contributi di medicina ed epidemiologia, sia contributi di economia sanitaria e management, etica e diritto. Rientra nella politica aziendale tutto quello che può proteggere e migliorare la salute della comunità attraverso l'educazione e la promozione di stili di vita, così come la prevenzione di malattie ed infezioni, nonché il miglioramento dell'assistenza (sia medica sia infermieristica) e della cura del paziente. Si prefigge quindi l'obiettivo scientifico di migliorare lo stato di salute degli individui e/o pazienti, sia attraverso la prevenzione di quanto potrebbe condizionarla sia mediante l'assistenza medica e/o infermieristica finalizzata al ripristino della stessa.

Gli articoli pubblicati impegnano esclusivamente gli autori, le opinioni espresse non implicano alcuna responsabilità da parte dell'Azienda Ospedaliera "SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo" di Alessandria.

La pubblicazione è presente in: [Directory of Open Access Journals \(DOAJ\)](#); [Google Scholar](#); [Academic Journals Database](#);

#### Comitato Scientifico:

Dr. Nicola Giorgione (Presidente)

Dr. Luciano Bernini (Vice-Presidente)

Dr. Francesco Arena

Dr. Massimo Desperati

Dr. Carlo Arfini

Dr. Ivo Casagrande

Dr. Gabriele Ferretti

Dr.ssa Lorella Gambarini

Dr. Francesco Musante

Dr. Claudio Pesce

Dr. Fernando Pesce

Dr. Salvatore Petrozzino

Dr. Giuseppe Spinoglio

#### Comitato di Direzione:

Dr. Antonio Maconi

Dr. Ennio Piantato

#### Responsabile:

Dr. Antonio Maconi

telefono: +39.0131.206818

email: [amaconi@ospedale.al.it](mailto:amaconi@ospedale.al.it)

#### Segreteria:

Roberto Ippoliti, Ph.D.

telefono: +39.0131.206819

email: [rippoliti@ospedale.al.it](mailto:rippoliti@ospedale.al.it)

#### Norme editoriali:

Le pubblicazioni potranno essere sia in lingua italiana sia in lingua inglese, a discrezione dell'autore. Sarà garantita la sottomissione di manoscritti a tutti coloro che desiderano pubblicare un proprio lavoro scientifico nella serie di WP dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria, purché rientrino nelle linee guida editoriali. Il Responsabile Scientifico di redazione verificherà che gli articoli sottomessi rispondano ai criteri editoriali richiesti. Nel caso in cui lo si ritenga necessario, lo stesso Responsabile valuterà l'opportunità o meno di una revisione a studiosi o ad altri esperti, che potrebbero o meno aver già espresso la loro disponibilità ad essere revisori per il WP (i.e. *peer*

*review*). L'utilizzo del *peer review* costringerà gli autori ad adeguarsi ai migliori *standard* di qualità della loro disciplina, così come ai requisiti specifici del WP. Con questo approccio, si sottopone il lavoro o le idee di un autore allo scrutinio di uno o più esperti del medesimo settore. Ognuno di questi esperti fornirà una propria valutazione, includendo anche suggerimenti per l'eventuale miglioramento, all'autore, così come una raccomandazione esplicita al Responsabile Scientifico su cosa fare del manoscritto (i.e. *accepted* o *rejected*).

Al fine di rispettare criteri di scientificità nel lavoro proposto, la revisione sarà anonima, così come l'articolo revisionato (i.e. *double blinded*).

#### Diritto di critica:

Eventuali osservazioni e suggerimenti a quanto pubblicato, dopo opportuna valutazione di attinenza, sarà trasmessa agli autori e pubblicata *on line* in apposita sezione ad essa dedicata.

Questa iniziativa assume importanza nel confronto scientifico poiché stimola la dialettica e arricchisce il dibattito su temi d'interesse. Ciascun professionista avrà il diritto di sostenere, con argomentazioni, la validità delle proprie osservazioni rispetto ai lavori pubblicati sui Working Paper of Public Health.

Nel dettaglio, le norme a cui gli autori devono attenersi sono le seguenti:

- I manoscritti devono essere inviati alla Segreteria esclusivamente in formato elettronico all'indirizzo e-mail dedicato (i.e. [rippoliti@ospedale.al.it](mailto:rippoliti@ospedale.al.it));
- A discrezione degli autori, gli articoli possono essere in lingua italiana o inglese. Nel caso in cui il manoscritto è in lingua italiana, è possibile accompagnare il testo con due riassunti: uno in inglese ed uno in italiano, così come il titolo;
- Ogni articolo deve indicare, se applicabile, i codici di classificazione JEL (scaricabili al sito: [http://www.econlit.org/subject\\_descriptors.html](http://www.econlit.org/subject_descriptors.html)) e le Keywords, nonché il tipo di articolo (i.e. Original Articles, Brief Reports oppure Research Reviews);
- L'abstract è il riassunto dell'articolo proposto, pertanto dovrà indicare chiaramente: Obiettivi; Metodologia; Risultati; Conclusioni;
- Gli articoli dovrebbero rispettare i seguenti formati: *Original Articles* (4000 parole max., abstract 180 parole max., 40 references max.); *Brief Reports* (2000 parole max., abstract 120 parole max., 20 references max., 2 tabelle o figure) oppure *Research Reviews* (3500-5000 parole, fino a 60 references e 6 tabelle e figure);
- I testi vanno inviati in formato Word (Times New Roman, 12, interlinea 1.5). Le note, che vanno battute in apice, non possono contenere esclusivamente riferimenti bibliografici. Inoltre, la numerazione deve essere progressiva;
- I riferimenti bibliografici vanno inseriti nel testo riportando il cognome dell'Autore e l'anno di pubblicazione (e.g. Calabresi, 1969). Nel caso di più Autori, indicare nel testo il cognome del primo aggiungendo *et al*; tutti gli altri Autori verranno citati nei riferimenti bibliografici alla fine del testo.
- I riferimenti bibliografici vanno elencati alla fine del testo in ordine alfabetico (e cronologico per più opere dello stesso Autore).

Nel sottomettere un manoscritto alla segreteria di redazione, l'autore accetta tutte le norme qui indicate.



*Titolo:* Monitoraggio cerebrale nel neonato preterm e late preterm mediante tecnica NIRS

*Autore:* Alice Grometto<sup>1</sup>

*Tipo:* Articolo Originale

*Keywords:* Neonato prematuro; danno cerebrale; monitoraggio cerebrale; terapia intensiva neonatale;

## *1. Introduzione*

### *1.1 Il Neonato Prematuro*

Il neonato prematuro (NP), in armonia con i criteri stabiliti dall'organizzazione mondiale della sanità e dall'American Academy of Pediatrics, è il nato di età gestazionale (EG) inferiore alla 37<sup>a</sup> settimana, prima che siano trascorsi 259 giorni dalla data dell'ultima mestruazione [American College of Obstetricians and Gynecologist ACOG 2013].

I NP possono essere classificati, in base al peso alla nascita in:

- Neonati di basso peso (LBW, low birth-weight), di peso alla nascita inferiore ai 2500 g;
- Neonati di peso molto basso (VLBW, very low birth-weight), di peso alla nascita inferiore a 1500 g;
- Neonati di peso estremamente basso (ELBW: extremely low birth-weight), di peso alla nascita inferiore ai 1000 g.

Nell'ambito dei NP, si identificano due sottogruppi di notevole rilevanza clinica: i very preterm (VP, <32 settimane di EG) ed i late preterm (LP), quando la nascita avviene tra la 34<sup>a</sup> e la 36<sup>a</sup> settimana e 6 giorni [Spong, C.Y. et al. 2011].

---

<sup>1</sup> Università del Piemonte Orientale  
Tesi di Laurea  
e-mail: [alice.grometto@libero.it](mailto:alice.grometto@libero.it)

L'incidenza dei parti prematuri negli ultimi 30 anni non si è modificata significativamente ed è stimata intorno al 9-12% delle nascite. I LBW rappresentano il 5-10%, i VLBW il 2-3% e i ELBW l'1% [Hamilton, B.E. et al. 2013]. Infine, i LP costituiscono più del 70% dell'intera popolazione dei NP [Spong, C.Y. et al. 2011].

### *1.2 Cause Di Prematuranza*

L'eziologia della nascita pretermine è molto varia ed è simile per le diverse categorie di prematuri. Le cause possono essere legate a fattori di rischio materni, quali ipertensione, gestosi, diabete mellito, infezioni, età materna avanzata o troppo giovane, malnutrizione, abuso di alcol, sostanze stupefacenti o farmaci, oppure possono essere legate a fattori di rischio ostetrici quali: gravidanza multipla, poliabortività, poli-oligoidramnios, malformazioni uterine. Altre cause possono riguardare fattori di rischio fetali come sofferenza o anomalie fetali [Behrman R.E., Butler A.S 2007].

Un parto pretermine può anche verificarsi per un inizio spontaneo del travaglio, per la rottura spontanea delle membrane o per provocazione del parto per esigenze materno-fetali.

Grazie al miglioramento delle cure prenatali e ostetriche, negli ultimi anni, si è assistito ad una significativa riduzione dell'incidenza dei neonati prematuri, mentre si è osservato un incremento dei LP. Le possibili cause di questo fenomeno sono state identificate: i) nell'aumento di gravidanze multiple e di primipare attempate (età della gravida > 35 anni), ii) in una riduzione dei parti vaginali e, iii) nella migliore sorveglianza ostetrica con una rapida identificazione dei casi a rischio di sofferenza fetale e/o di ritardato accrescimento di crescita e conseguente induzione del parto vaginale o mediante taglio cesareo.

### *1.3 Il Neonato Prematuro: Dati Epidemiologici*

Negli ultimi vent'anni si è assistito ad un aumento della sopravvivenza dei neonati pretermine, con risultati sorprendenti nell'ultima decade soprattutto per quanto riguarda i neonati prematuri con peso alla nascita inferiore a 1000 grammi (ELBW). Infatti, dalla seconda metà degli anni '90 ad oggi la percentuale di sopravvivenza è del 90% [Wilson-Costello, D. et al. 2005] a scalare intorno al 10% per l'EG più precoci. Tale aumento è dovuto principalmente al sensibile miglioramento tecnologico (ventilazione meccanica invasiva e non-invasiva) associato al livello dell'assistenza in terapia intensiva neonatale e delle terapie quali la profilassi prenatale con steroidi e l'utilizzo del surfattante che hanno consentito di ridurre sensibilmente l'im maturità polmonare.

Le principali patologie a carico del NP sono riportate in Tabella 1.

Respiratorio	sindrome da distress respiratorio, apnea del prematuro, polmonite interstiziale, displasia broncopolmonare.
Cardiovascolare	ipotensione, pervietà del dotto arterioso, ipertensione polmonare.
Gastro-intestinale	iperbilirubinemia, intolleranze alimentari, enterocolite necrotizzante.
Ematologico	Anemia
Immunologico	immunodeficienza, infezioni perinatali, infezioni nosocomiali.
Oftalmico	retinopatia del prematuro.
Renale	alterazioni del bilancio idro-elettrolitico, alterazioni dell'equilibrio acido-base.
SNC	leucomalacia periventricolare, emorragia peri-intraventricolare, idrocefalo.

*Tabella 1. Patologie a carico dei vari organi ed apparati nei NP.*

Purtroppo non si può registrare un simile miglioramento anche per ciò che concerne la morbilità, soprattutto neurologica che non è sostanzialmente variata dagli anni 80 ad oggi (12% vs 10%). La spiegazione risiede anche nell'aumentata sopravvivenza dei NP <25 settimane di EG ad alto rischio di esiti neurologici permanenti a carico del sistema nervoso centrale (SNC) [Hack M., Fanaroff A.A., 2000]. I VLBW sono pertanto a rischio di sequele neurologiche maggiori (paralisi cerebrale, ritardo mentale, epilessia, cecità, sordità neurosensoriale) e minori (disturbi dell'apprendimento, del linguaggio, del comportamento) [Bhutta, A.T. et al. 2002].

I dati sopra riportati rilevano come in passato, nell'ambito dei NP, gli studi principali si siano focalizzati sui VP ad alto rischio di disturbi neuroevolutivi, dal ritardo mentale alle paralisi cerebrali infantili [Leone, A. et al. 2012]. L'encefalo in base all'età gestazionale ha una vulnerabilità diversa al danno cerebrale, con possibilità di sviluppare lesioni di tipo diverso, quindi nel late preterm possono aversi sia lesioni tipiche della prematurità (leucomalacia periventricolare ed emorragia intraventricolare), [Volpe, J.J. 2001], che lesioni tipiche del neonato a termine (lesioni dei gangli della base, infarti arteriosi, trombosi venose).

Il danno cerebrale nei nati pretermine ha eziologia multifattoriale, legata all'imaturità intrinseca anatomica e funzionale del sistema nervoso nel pretermine, ad ipossia, ad iperossia, ad instabilità emodinamica nei primi giorni di vita [De Vries L., Rennie J.M. et al. 1999]. La prevenzione del danno cerebrale è molto complessa e deve necessariamente essere supportata

dalla conoscenza dei meccanismi di neurodegenerazione e dal possibile riconoscimento del momento dell'insulto, che ci permetta di individuare eventuali strategie di intervento per la protezione cerebrale [Wang, M.L. et al. 2004].

#### *1.4 Il Late Preterm*

I dati in letteratura dimostrano come il LP sia stato sottostimato a discapito dei VP. Solamente nell'ultima decade è stato dimostrato come il LP presenti una maggiore incidenza rispetto ai nati a termine di distress respiratorio, ittero, difficoltà di alimentazione, iperglicemia, instabilità termica, sepsi, asfissia, complicanze neurologiche a breve ed a lungo termine [Engle, W.E. et al. 2007], [Wilson-Costello, D.2005]. In particolare, l'incidenza di danno cerebrale è 3-4 volte maggiore rispetto ai nati a termine e 2 volte per quanto riguarda il ritardo mentale, i problemi di apprendimento e comportamentali [8 Wilson-Costello, D. 2005]. L'encefalo in base all'età gestazionale ha una vulnerabilità diversa all'insulto cerebrale, con la possibilità di sviluppare lesioni di tipo diverso. Pertanto nel LP si possono avere sia le lesioni tipiche dei VLBW (leucomalacia periventricolare ed emorragia intraventricolare) [Volpe, J.J. 2001], che lesioni tipiche del neonato a termine (lesioni dei gangli della base, infarti arteriosi, trombosi venose).

La spiegazione risiede negli studi di neurofisiologia condotti che hanno rilevato come tale periodo rappresenti un momento critico per lo sviluppo cerebrale (Kinney, H.C. 2006). Infatti, a 28 settimane di EG, il cervello ha un peso pari al 13% di quello del nato a termine mentre a 34 settimane ha un peso pari al 65%. Inoltre, il volume della corteccia cerebrale rappresenta il 53% di quella del nato a termine. Di conseguenza in tale periodo si assiste ad un accrescimento del volume cerebrale pari al 50% del volume totale. Di non minore importanza il peso cerebrale nel LP raggiunge il 65% di quello a termine [Kinney, H.C. 2006] (Figura 1).

Esistono pertanto significative differenze nello sviluppo encefalico in relazione all'EG ed in particolare nei LP si assiste ad un rapido sviluppo cerebrale strutturale e funzionale in termini di sinaptogenesi ed arborizzazione che rappresentano il 35% del totale (Figura 2) [ Kinney, H.C. 2006].

## Human Brain Growth

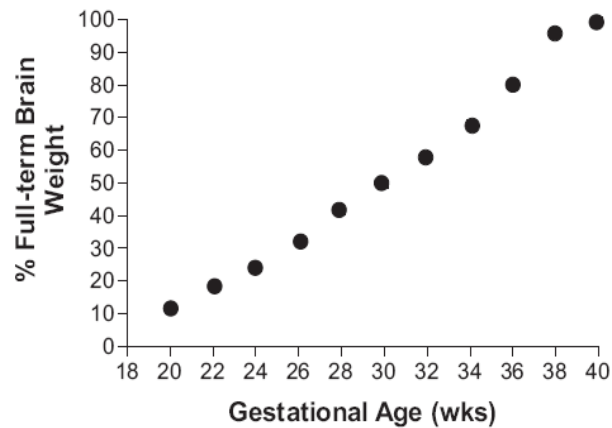


Figura 1. Peso cerebrale espresso in percentuale.

### Monitoraggio Cerebrale

#### 1.5 Elettroencefalografia (EEG)

L'EEG è un tecnica di indagine neurofisiologica funzionale relativamente semplice, che consente un'esplorazione dinamica, non invasiva, in tempo reale, dell'attività elettrica dell'encefalo, permettendo contemporaneamente di studiare i rapidi processi maturativi che interessano il SNC del neonato in particolar modo a livello della corteccia cerebrale (Boylan 2010).

### Development of the Human Cerebral Cortex

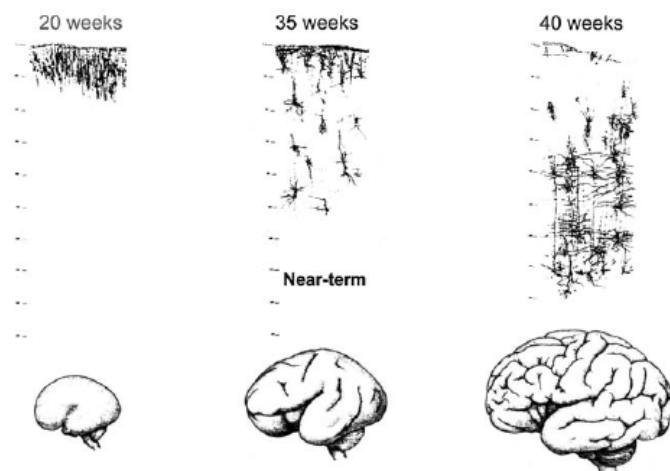


Figura 2. Stadi di sviluppo morfologico, funzionale cerebrale.

EEG consiste nella registrazione dell'attività elettrica cerebrale mediante elettrodi situati sulla superficie del capo e collegata ad un' amplificatore, l'elettroencefalografo. L'attività registrata dagli elettrodi rappresenta la somma e la media di un gran numero di potenziali postsinaptici generati dall'attività dendritica dei neuroni corticali più superficiali. Tale attività è modulata da input generati da strutture subcorticali la cui localizzazione precisa non è del tutto nota per quel che riguarda l'età neonatale.

Nell'EEG si osservano variazioni periodiche dei potenziali registrati, dette ritmi, meglio caratterizzati dalla frequenza che dall'ampiezza (Figura 3) come segue:

- Frequenze alfa (8-14 Hz): caratteristiche delle regioni cerebrali posteriori. Rappresentano l'attività di fondo della veglia tranquilla. Interrotte tipicamente dall'apertura degli occhi, "reazione d'arresto", in modo sincrono e simmetrico sulle derivazioni dei due lati.
- Frequenze beta ( $\geq 14$  Hz): correlate all'attività delle regioni cerebrali anteriori e centrali; caratterizzate da basso voltaggio e aumentate da farmaci come le benzodiazepine e barbiturici.
- Frequenze theta (4-7 Hz) e delta ( $< 4$  Hz): caratteristiche dei neonati.

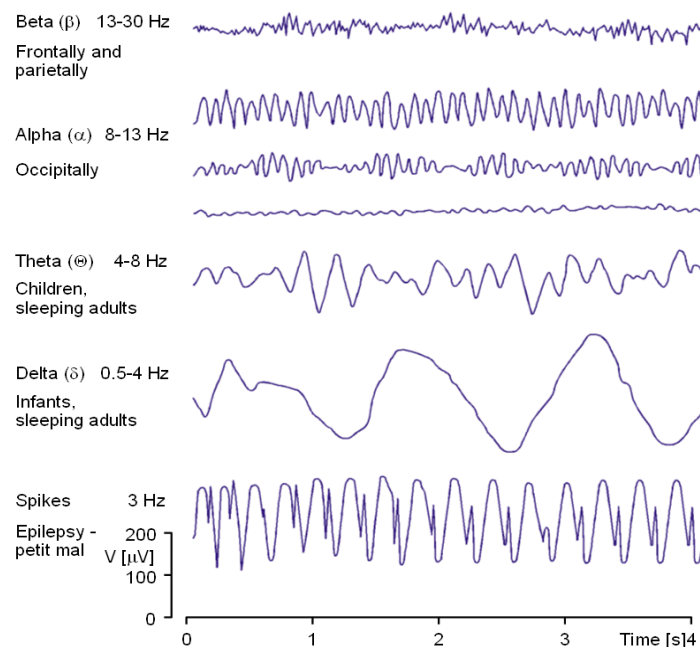


Figura 3. caratteristiche principale delle onde EEG.

La maturazione spontanea dell'attività EEG è stata studiata nel dettaglio sia nel neonato a termine che nel pretermine. Una risposta sensoriale specifica si manifesta con l'aumentare dell'EG ed è strettamente correlata al progressivo sviluppo e affinamento delle strutture





cerebrali. Lo sviluppo della normale attività EEG nel periodo neonatale viene spesso associata ai vari stati del sonno. In termini generali, la componente attiva del sonno, in tutti i nuovi nati, è lo stato predominante, e rappresenta circa il 70% dello stato di sonno nei prematuri e il 50% nei nati a termine.

#### *1.6 Ecografia Cerebrale (EC):*

EC è una tecnica diagnostica non invasiva, utilizzabile al letto del paziente, comunemente usata nelle terapie intensive neonatali (TIN) come esame di routine nelle prime settimane di vita e predimissione; permette di visualizzare le strutture cerebrali utilizzando come finestre acustiche le fontanelle (anteriore e posteriore). Consente di identificare lesioni quali emorragie intraventricolari (IVH) di diversa gravità, emorragia del foglietto germinativo (GMH), infarto-emorragia parenchimale (IPH), leucomalacia periventricolare (PVL), lesioni cistiche, anomalie di segnale (ipercogenicità) di diverso grado transitorie o persistenti, dilatazioni ventricolari. EC, presenta tuttavia scarsa sensibilità e specificità nella diagnosi di lesioni della sostanza bianca, se confrontata con la Risonanza Magnetica per Imaging (MRI).

#### *1.7 Risonanza Magnetica per Imaging (MRI)*

MRI è una tecnica usata in campo medico per ottenere immagini 3-D ad alta definizione dei vari organi ed apparati. Nei NP si rivela essere un efficace strumento diagnostico per evidenziare:

- i) emorragie e lesioni cerebrali di vario grado e sede (IVH, GMH, IPH, PVL) intra-periventricolari;
- ii) lesioni focali della stanza bianca e grigia;
- iii) alterazioni nei processi di mielinizzazione.

Nei neonati LP la RMN cerebrale consente una diagnosi precoce di lesioni:

- i) della sostanza bianca;
- ii) emorragiche o ischemiche (inclusi gli infarti arteriosi e le trombosi venose);
- iii) da ipoglicemia.

Nei neonati a termine la RMN risulta l'indagine sicuramente più accurata e precoce nello stabilire l'entità del danno da insulto ipossico-ischemico. Le nuove tecniche quali la diffusion RMN; effettuata nelle prime ore di vita hanno una maggiore sensibilità diagnostica e prognostica del danno cerebrale.

Le metodiche sopra riportate per quanto affidabili non sono disponibili presso tutte le strutture di Neonatologia o, come emerge dalla Letteratura nelle prime ore dall'insulto, possono essere indisponibili e/o incapaci di individuare l'insorgenza del danno a livello sub-clinico (Volpe JJ et al. 2011). Nasce pertanto l'esigenza di individuare una metodica non invasiva, affidabile e sicura in grado di fornire utili informazioni sullo stato di ossigenazione cerebrale sia nei neonati a rischio che in quelli fisiologici. Recentemente la Near InfraRed Spettroscopy (NIRS) è stata proposta come sistema di monitoraggio cerebrale non invasivo in TIN (Greisen, G. 2006).

#### *1.8 Near InfraRed Spectroscopy (NIRS).*

La NIRS è un sistema di monitoraggio non invasivo dello stato di perfusione e ossigenazione tissutale.

L'apparecchio NIRS consiste in un monitor connesso tramite due cavi in fibra ottica a due differenti elettrodi (Figura 4). La misurazione prevede l'applicazione di elettrodi autoadesivi nel distretto di interesse (regione frontale del paziente o distretto somatico). L'elettrodo è costituito da due parti collegate alla macchina tramite fibre ottiche: una sorgente di luce di lunghezza d'onda tra 775 e 850 nm, ad una frequenza di circa 2.7 KHz, e una sonda ricevente posta a circa 4 cm di distanza, costituita da un fotodiodo formato da tre segmenti che captano ogni 0.5 secondi il fascio di luce trasmesso dai tessuti sottostanti [Owen-Reece, H. et al. 1999].



*Figura 4. Monitor NIRS (Casmed Foresight).*

Le lunghezze d'onda utilizzate risultano essere particolarmente adatte a questo tipo di indagine, in quanto presentano un assorbimento inferiore rispetto alla luce visibile e sono

quindi in grado di penetrare nei tessuti fino ad un massimo di 4 cm, di essere assorbite dai cromofori naturali e rilevate dalla sonda ricevente [Beer, A. 1952].

La NIRS sfrutta la presenza all'interno dei tessuti umani dell'emoglobina (Hb), cromoforo di intenso colore rosso, il cui coefficiente di assorbimento varia a seconda dello stato di ossigenazione. Hb può presentarsi in due principali forme: legata all'ossigeno (ossiemoglobina, HbO<sub>2</sub>), oppure legata a CO<sub>2</sub> (carbossi-emoglobina, HbCO<sub>2</sub>). L'emoglobina riflette lo stato di ossigenazione e perfusione del tessuto e lo studio delle diverse forme della proteina rende possibile, grazie agli ossimetri, la disponibilità di dati in tempo reale.

In Neonatologia, la NIRS è stata utilizzata negli studi clinici con lo scopo di investigare lo stato di ossigenazione cerebrale rilevata a livello della biforcazione tra arteria cerebrale media e anteriore nel cervello dei VLBW e dei neonati a termine.

Nell'adulto circa il 97% dell'emoglobina si trova nella forma HbA (una coppia di catene  $\alpha$  che presentano la stessa sequenza amminoacidica, e una coppia di catene  $\beta$  che presentano sequenze amminoacidiche differenti), il 2.5% nella forma HbA<sub>2</sub> (2 catene  $\alpha$  e 2 catene  $\delta$ ), l'1% nella forma fetale HbF (2 catene  $\alpha$  e 2 catene  $\gamma$ ).

Nei nuovi nati la quota di HbF è 60-80%, quella di HbA 20-40% e quella di HbA<sub>2</sub> 0.2%. A partire dal 4° mese di vita la quota di HbF scende al 10-15%, quella di HbA aumenta a 82-87% e la quota di HbA<sub>2</sub> sfiora lo 0.5%. All'anno di vita vengono raggiunti valori sovrapponibili a quelli dell'adulto [Pirastru, M. et al. 2004]. Ciascuna subunità emoglobinica lega un gruppo eme, di conseguenza la proteina può legare quattro molecole di ossigeno, trasportando ossigeno dai polmoni ai tessuti periferici (Figura 5).

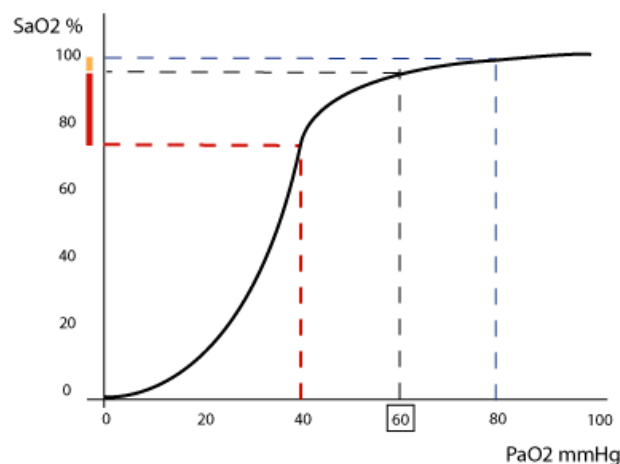


Figura 5. Curva di dissociazione dell'Hb che correla con la saturazione di emoglobina percentuale (SO<sub>2</sub>) e con la pressione parziale dell'ossigeno disciolto nel sangue (PaO<sub>2</sub>).



Il meccanismo di trasporto O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> si basa sul fatto che la CO<sub>2</sub> abbassa notevolmente l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno. A livello tissutale l'elevata concentrazione di CO<sub>2</sub> determina una fisiologica diminuzione dell'affinità dell'emoglobina per l'O<sub>2</sub> promuovendo quindi il rilascio di quest'ultimo. Nei polmoni, al contrario, la concentrazione di CO<sub>2</sub> è minore, e determina una maggiore affinità dell'Hb per l'ossigeno. In particolare, la saturazione arteriosa dell'ossigeno (SaO<sub>2</sub>), rappresenta la quantità di ossiemoglobina (HbO<sub>2</sub>) espressa come frazione della quantità totale di emoglobina in grado di legarsi all'ossigeno (ossiemoglobina + deossiemoglobina) [Ku, D.N. 1997]. In un ciclo cardiaco intero, il sangue arterioso saturo di ossigeno (~97%) lascia il polmone immettendosi nel circolo sistemico ed una volta giunto nei distretti periferici diventa venoso (saturo al 67%) in seguito al rilasciamento di circa il 30% dell'emoglobina ossigenata ed ossigeno ai tessuti.

In termini pratici la NIRS permette di analizzare le variazioni della concentrazione di HbO<sub>2</sub>, di Hb e di Hb totale (Hb tot = HbO<sub>2</sub> + Hb) ed esprime un valore di saturazione artero-venosa o mista (rSO<sub>2</sub>). rSO<sub>2</sub>, aumenta in relazione all'aumento del trasporto di ossigeno o alla riduzione della domanda oppure diminuisce in condizioni di ridotto trasporto di ossigeno o di aumentata domanda. Tali valori sono fondamentali per il calcolo del coefficiente di ossigenazione TOI (tissue oxigenation index), che viene espresso dalla seguente formula:

$$(TOI = SaO_2 - rSO_2 / SaO_2)$$

Valori normali di TOI indicano un perfetto equilibrio tra domanda e disponibilità di O<sub>2</sub>, valori più elevati invece, sono spesso associati a sindromi legate a danno d'organo (perdita di vaso regolazione, sepsi, ipo/iperoxia, alterazioni della gittata cardiaca).

La misurazione NIRS fornisce un trend dello stato di ossigenazione, cerebrale e somatica. Lo stato di ossigenazione dei vari tessuti è influenzato da diversi elementi quali le variazioni del flusso ematico extracerebrale, la diversa penetrabilità della luce a causa di una differente composizione della cute e delle strutture adiacenti, la diversa quantità di Hb circolante, la diversa sede di posizionamento della sonda o il riposizionamento della stessa durante il monitoraggio [Greisen, G. 2006]. Inoltre, è stato dimostrato come lo stato di ossigenazione cerebrale risulta significativamente correlato a parametri individuali quali la saturazione venosa centrale, la misurazione transcutanea della saturazione O<sub>2</sub>, i valori di pCO<sub>2</sub> e la pressione arteriosa [Toet, M.C. 2009]. Esiste quindi, una stretta correlazione tra la circolazione cerebrale e lo stato emodinamico sistemico del paziente.

L'impiego della NIRS in neonatologia è diventato più frequente negli ultimi anni per diversi motivi tra i quali:



- i) la non-invasività e la possibilità di ottenere dati in tempo reale sullo stato di ossigenazione del distretto di interesse;
- ii) la registrazione può essere effettuata anche in corso di procedure, interventi o trattamenti specifici;
- iii) la ridotta dimensione del cranio, il minore spessore delle strutture extracerebrali e la riduzione fisiologica degli shunt nei primi giorni di vita ne hanno notevolmente favorito l'applicazione;
- iv) la pressoché assenza di effetti indesiderati [Ito, Y. et al.2000];
- v) la possibilità di ottenere informazioni relative ad un intero emisfero, grazie alle ridotte dimensioni craniche del NP, al minore spessore del cuoio capelluto e del tessuto osseo.

Tra le limitazioni segnalate all'utilizzazione della NIRS, nel neonato, particolare attenzione deve essere posta alla presenza di ittero, di cute scarsamente deterata, di edema severo, di fistole artero-venose o di un eccesso di luce esterna che possono modificare la capacità assorbente dei cromofori inficiando le rilevazioni dell'apparecchio. Un problema non ancora risolto riguarda le influenze esterne legate al movimento del paziente durante la registrazione, che nei neonati, soggetti non complianti, possono creare non poche interferenze rendendo più difficoltosa l'interpretazione dei dati [van Bel, F. et al. 2008].

## *2. Materiali e Metodi*

### *2.1 Obiettivo dello Tesi*

Presso la TIN dell'Ospedale SS Biagio, Antonio e C. Arrigo di Alessandria i neonati LP e prematuri vengono sottoposti a monitoraggio NIRS di routine. Nel presente studio abbiamo reclutato due popolazioni di neonati LP fisiologici e di NP che hanno raggiunto l'età cronologica dei LP. Lo scopo è stato quello di confrontare lo stato di maturazione cerebrale in termini di stato di ossigenazione cerebrale mediante tecnica NIRS.

### *2.2. Popolazione di Studio*

E' stato effettuato uno studio caso controllo su due gruppi di LP fisiologici (n=16) e di NP diventati LP (NP/LP: n=48) e confrontati per EG (compresa tra 34 e 36+6 settimane) al momento della registrazione NIRS (1 LP vs 3 NP/LP). Tutti i neonati erano stati ricoverati



presso la TIN della nostra Azienda nel periodo compreso tra il mese di agosto 2013 e il mese di marzo 2014.

L'EG è stata determinata in base criteri clinici ed ecografici valutati nel primo trimestre di gravidanza. Una crescita appropriata è stata definita dalla presenza di segni ecografici (circonferenza addominale e diametro bi-parietale tra il 10° e 90° centile) in accordo ai normogrammi di Campbell e Thoms [Campbell S., Thoms A et al. 1977] e dal peso post natale tra il 10° e 90° centile in accordo ai nostri standard per popolazione.

I criteri di esclusione sono stati: gravidanze multiple, ritardo di crescita intrauterina (IUGR), malformazioni fetali, anomalie cromosomiche, asfissia perinatale, ipertensione gestazionale, distocia.

Lo studio è stato approvato dal comitato etico locale ed i genitori dei soggetti ammessi allo studio hanno dato consenso informato.

### *2.3 Monitoraggio NIRS*

Per il monitoraggio non invasivo dell'ossigenazione e dell'emodinamica cerebrale è stato utilizzata tecnica NIRS (Mc-200 Series Cerebral Oximeter Casmed Foresight, USA).

Elettrodi autoadesivi, contenenti i diodi responsabili dell'emissione della luce e i sensori di rilevazione, sono stati fissati alla cute del paziente nella regione parietale del cranio. Per la valutazione dell'ossigenazione cerebrale, i valori di rSO<sub>2</sub> sono stati calcolati sulla base dei segnali ottenuti da entrambi i sensori, ed espressi come peso percentuale di emoglobina ossigenata rispetto all'emoglobina totale (HbO<sub>2</sub>/Hbtot).

In questo studio vengono forniti valori assoluti di rSO<sub>2</sub>, ciò minimizza eventuali artefatti da movimento, e rende possibile un confronto nel tempo tra i valori [Menke, J. et al. 2003].

I dati riferiti ai neonati LP sono stati registrati continuamente a intervalli regolari di un minuto durante le prime 24-h di vita nei LP (mediana 18-h) (durata media registrazione: 3-h). Nei neonati NP/LP la registrazione è stata effettuata nelle stesse modalità, alla stessa EG del gruppo LP e la durata della registrazione è sovrapponibile al gruppo LP (media: 3-h).

### *2.4 Parametri Standard di Monitoraggio*

La frequenza cardiaca, respiratoria e la saturazione di ossigeno sono state valutate nelle prime 6 ore dopo la nascita tramite Masimo Radical Datascope (Masimo Corporation, Irvine, CA, USA) ad intervalli di un minuto in entrambi i gruppi di studio.

Tutti i soggetti ammessi allo studio sono stati sottoposti a esami clinici routinari.

## 2.5 Esame Neurologico

L'esame neurologico è stato effettuato quotidianamente secondo i criteri Pretchl (Pretchl, HFR. 1882). I neonati sono stati suddivisi in tre gruppi diagnostici: normali, sospetti o anormali.

Ciascun soggetto veniva identificato come anormale quando presentava inequivocabilmente uno o più dei seguenti segni neurologici:

- aumento o diminuzione dell'eccitabilità (convulsioni, sindrome da ipereccitabilità, coma, sindrome da apatia);
- aumento o diminuzione della mobilità (ipercinesia o ipocinesia);
- aumento o diminuzione del tono (ipotonia ipertonica);
- asimmetria (centrale o periferica);
- combinazione dei sintomi precedenti.

I neonati che presentavano chiari segni di una sindrome sono stati definiti patologici. I casi in cui erano presenti sintomi isolati (lieve ipotonia, tremori) venivano classificati come sospetti. Sia i neonati sospetti che patologici sono stati esclusi dallo studio.

## 2.6 Analisi Statistica

I dati sono stati analizzati per differenze statisticamente significative tra i due gruppi, tramite t-test e con Mann-Whitney U two-sided test quando non erano normalmente distribuiti. Il confronto tra le gli outcomes neonatali è stato effettuato tramite test di Fisher. La significatività statistica è stata fissata a  $P < 0.05$

## 3. Risultati

### 3.1 Dati Perinatali

Le caratteristiche e gli outcomes perinatali nei neonati LP e nei NP/LP sono riportati in Tabella 2. Come atteso, esisteva una significativa differenza tra i due gruppi ( $P < 0.01$ ) riguardo il peso e l'EG alla nascita. L'età materna, il rapporto maschio/femmina, l'incidenza di taglio cesareo non differivano nei due gruppi di studio ( $P > 0.05$ ) mentre l'incidenza di corioamniosite e di inborn/outborn e il punteggio di Apgar al 1-5 minuto erano significativamente elevati ( $P < 0.001$ ) nei NP/LP.

I parametri di monitoraggio (valori emogasanalisi, bilirubinemia) e clinici (EG) effettuati prima della registrazione non differivano ( $P>0.05$ ) nei due gruppi eccetto per il peso che era significativamente elevato ( $P<0.01$ ) nei LP.

	LP (N=16)	PT (N=48)	P
<b>Dati Materni</b>			
Età materna (aa)	35 ± 5	32 ± 6	0.08
Corioamniosite (n°/tot)	0/16	25/48	<0.001
<b>Parametri Neonatali</b>			
EGN (sett)	34 ± 1	29.5 ± 2	<0.001
PN (g)	2121 ± 288	1.457 ± 555	<0.001
TC (n°/tot)	9/16	32/48	0.55
Sesso (M/F)	12/4	23/25	0.08
Inborn/Outborn (n°/tot)	8/16	5/48	0.002
Apgar 1°	8 ± 2	6 ± 2	<0.01
Apgar 5°	9 ± 1	8 ± 1	<0.01
<b>Outcomes Neonatali</b>			
RDS (n°/tot)	0/16	47/48	
VM (n°/tot)	0/16	47/48	
IVH (n°/tot)	0/16	11/48	
Sepsi (n°/tot)	2/16	39/48	
<b>Parametri al Monitoraggio</b>			
Bilirubinemia (mg/dl)	6.4 ± 5.2	5.5 ± 3.7	0.45
EG (sett)	35 ± 1	35 ± 1	1.00
Peso (g)	2031 ± 253	1.656 ± 448	<0.01
SO <sub>2</sub> inizio Monitoraggio	98 ± 3	99 ± 2	0.13
SO <sub>2</sub> fine Monitoraggio	98 ± 2	98 ± 1	1.00

Tabella 2. Caratteristiche demografiche e principali parametri clinici dei pazienti coinvolti nello studio suddivisi in due gruppi sulla base dell'età gestazionale

Abbreviazioni: età gestazionale (EG); nascita (N); settimane (sett); peso (P); grammi (g); numero (n°); maschio (M); femmina (F); anni (aa); numero su totale (n°/tot); circonferenza cranica (CC); taglio cesareo (TC); eccesso base (BE); sindrome da distress respiratorio (RDS); ventilazione meccanica (VM); emorragia intraventricolare (IVH).

### 3.2 Monitoraggio NIRS

La durata della registrazioni dei valori NIRS bei diversi distretti (cerebrale, splancnico) non differivano ( $P>0.05$ ) nei due gruppi di studio. I dati NIRS sono riportati in Figura 2.

Sia nel gruppo LP e NP/LP i valori di rSO<sub>2</sub> erano significativamente inferiori ( $P<0.001$ ) rispetto a quelli di sSO<sub>2</sub>. Inoltre, i valori di rSO<sub>2</sub> e di sSO<sub>2</sub> erano significativamente superiori ( $P<0.001$ ) nel gruppo LP rispetto al NP/LP.

Tutti i neonati dei due gruppi di studio sono stati dimessi dalla nostra struttura in buone condizioni cliniche.



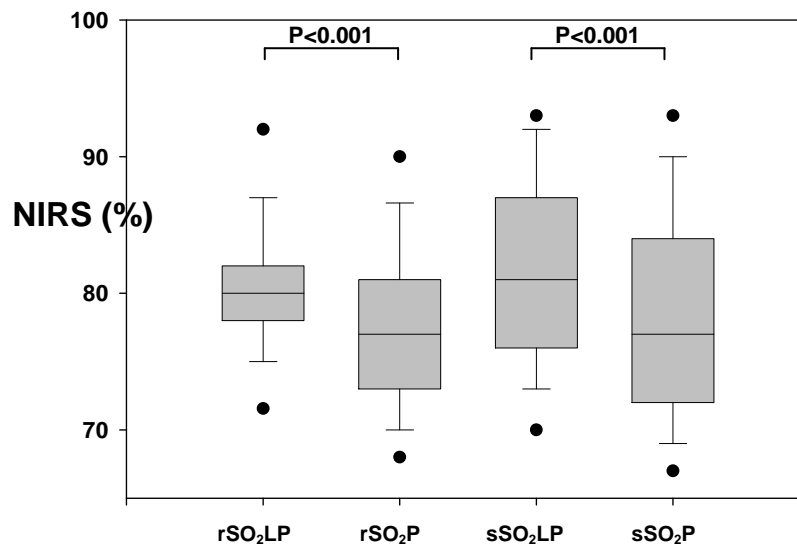


Figura 2. Valori di NIRS (%) nel distretto cerebrale (rSO<sub>2</sub>) e somatico (sSO<sub>2</sub>) nei neonati late preterm (LP) e nei neonati pretermine/late preterm (NP/LP).

#### 4. Discussione

Negli ultimi anni, grazie all'evoluzione tecnologica, diagnostica e terapeutica, la Neonatologia ha subito notevoli cambiamenti soprattutto nella gestione perinatale dei NP. Non meno importante è stato il cambiamento culturale, in termini di non-invasività e cure gentili, delle cure perinatali che ha determinato un miglioramento considerevole dell'attesa e della qualità di vita dei NP sotto le 28 settimane di EG.

Rispetto al neonato a termine, infatti, il NP deve affrontare immediatamente molteplici difficoltà che sono tanto maggiori quanto precoce è la nascita. L'entusiasmo scaturito dall'aumento della sopravvivenza deve però fare i conti con la consapevolezza che questi neonati sono sottoposti a un rischio molto maggiore, rispetto ai nati a termine, di sviluppare problematiche ed esiti a lungo termine (Allen C.M. et al. 2002) che potrebbero condizionare la qualità della loro vita e della loro famiglia (Donohue 2002). Infatti, mentre negli ultimi anni il tasso di sopravvivenza dei NP è notevolmente migliorato, la morbilità, soprattutto neurologica, non è migliorata di pari passo. Soprattutto la prematurità grave è fattore di rischio per disabilità di diverso grado: disabilità maggiori (paralisi cerebrali, disturbi sensoriali, gravi ritardi mentali, cecità, sordità, disabilità fortemente correlate con alcune



patologie tipiche del prematuro come la leucomalacia periventricolare, le emorragie cerebrali, la retinopatia del prematuro la cui insorgenza risulta attualmente diminuita) e disabilità minori o disturbi cerebrali minimi, cioè sequele caratterizzate da alterazioni dello sviluppo percettivo-motorio, deficit relazionali e comportamentali e disordini del linguaggio (LS 2009). In quest'ottica, i LP che costituiscono circa i tre quarti di tutte le nascite pretermine sono in aumento, come numero assoluto e percentuale all'interno della prematurità. In questi neonati il rischio di paralisi cerebrale è almeno 3-4 volte maggiore che nei nati a termine raggiungendo quindi circa l'8-10 per mille di tutti i nati LP. Non esiste una tipologia di lesioni caratterizzante questo gruppo di neonati, al pari di quanto avvenga per i NP di alto grado con IVH e cerebellare o per i neonati a termine asfittici con lesioni dei nuclei della base e dei talami. I LP possono sviluppare entrambe le tipologie di danno cerebrale, e cioè quelle dei NP e di quelli a termine inclusi gli infarti arteriosi e le trombosi venose.

Il salto qualitativo, nell'ambito della gestione precoce dei casi a rischio di esiti a breve ed a lungo termine, richiede un sistema sofisticato e multi parametrico di monitoraggio che al momento attuale non ha ancora trovato la sua identità. Sebbene siano stati fatti importanti passi avanti nella diagnosi e prognosi delle principali patologie a carico del SNC grazie all'avvento dell'ecografia e della RM cerebrale (Cowan et al., 2005), la precoce selezione dei casi a rischio rimane ancora un obiettivo da conseguire. Infatti, nelle prime ore dall'insulto ipossico le metodiche di cui sopra possono essere ancora silenti o non disponibili mentre il danno è già in atto. E' necessario pertanto individuare nuove metodiche che forniscano informazioni, in continuo, sullo stato di sviluppo e di danno a carico del SNC nelle fasi più precoci dalla nascita e/o dall'insulto.

Tra quelli recentemente più studiate, la NIRS sembra offrire promettenti garanzie.

La presente tesi di ricerca dimostra, per la prima volta, che lo stato di ossigenazione cerebrale e somatico in due gruppi di neonati LP al momento del monitoraggio differiscono a seconda che l'EG venga raggiunta mediante procedimento naturale (parto naturale all'EG indicata) o assistita (grazie alle cure effettuate in TIN). A nostra conoscenza non ci sono in Letteratura studi neuro-radiologici, funzionali e/o biochimici che confrontino queste due popolazioni di neonati ad una precisa età gestazionale.

I nostri dati confermano, un'evidenza fornita dalla natura, che l'accrescimento in un ambiente confortevole quale l'utero materno non può essere ancora sopperito dall'evoluzione tecnologica e dalle cure dell'uomo. Cionondimeno, le differenze nello stato di ossigenazione

cerebrale e somatico tra i due gruppi necessitano una spiegazione scientifica tenendo conto che l'outcome neurologico a distanza non differiva nei due gruppi di neonati studiati.

Per quel che riguarda i parametri rSO<sub>2</sub> e sSO<sub>2</sub> la popolazione di neonati LP hanno presentato valori significativamente aumentati rispetto al gruppo dei neonati NP. Queste differenze possono essere spiegate dalla differente capacità di estrazione dell'ossigeno a livello tissutale. I nostri dati confermano che il neonato LP presenta un vantaggio rispetto a quello la cui maturazione cerebrale è avvenuta all'esterno dell'ambiente protetto dell'utero materno, in termini di funzionalità e conseguente maturazione del SNC. La complessità dei fenomeni di maturazione anche a età gestazionali più elevate è davvero poco conosciuta, basti pensare al ruolo di un gruppo di neuroni, definiti "subplate neurons" che giacciono al di sotto della corteccia cerebrale, e che lì rimangono fino a poco dopo la nascita. La vulnerabilità di questa fase sembra essere maggiore nell'età dei LP anche se non vi è una specifica lesione che identifichi questa fascia gestazionale (Kinney et al., 2006).

Gli elevati valori NIRS nei LP richiedono ulteriore riflessione. La spiegazione risiede anche nel periodo d'indagine. In particolare sappiamo che nei LP: i) il cervello raggiunge un peso pari al 65% del totale, ii) volume della corteccia cerebrale raggiunge il 53% di quello del nato a termine [Kinney, H.C. 2006], iii) lo sviluppo cerebrale strutturale e funzionale in termini di sinaptogenesi ed arborizzazione raggiungono fino al 35% del totale e, iv) la concentrazione biochimica di fattori neurotrofici coinvolti nella moltiplicazione neuronale e nella sinaptogenesi, quali la proteina S100B, nei LP è significativamente elevata rispetto a quella dei NP e a termine (Sannia A. et al. 2013).

In considerazione dei punti sopradescritti è possibile che i diversi valori dello stato di ossigenazione rilevati nel nostro studio siano riferibili a un diverso sviluppo del SNC dei LP naturali nel periodo di osservazione. Il fatto che non siano evidenti e significative differenze nell'outcome neurologico a distanza suggeriscono una diversa fase temporale di attivazione dei maggiori processi di sviluppo del SNC.

Ulteriori spiegazioni risiedono nel fatto che il neonati NP/LP siano stati sottoposti a strategie terapeutiche in TIN che possano in qualche modo cambiare il timing dello sviluppo del SNC. Ci riferiamo a: i) fattori ambientali (luce, rumori, suoni) che differiscono sicuramente rispetto alla tranquillità ed al sistema protettivo dell'utero materno, ii) interruzione della diade madre-feto e successivamente a quella madre bambino che sappiamo esercitare riflessi inibenti sullo sviluppo del SNC, iii) procedimenti terapeutici invasivi (ventilazione meccanica etc) e non (terapie con inotropi, steroidi, eritropoietina, trasfusioni) che possono avere determinato un



diverso assesto biochimico del neonato. E' pertanto ragionevole concludere che l'insieme dei fattori sopra riportati possa in qualche modo aver modificato il programming di sviluppo del SNC nei neonati NP/LP. Ulteriori studi a questo riguardo con monitoraggio continuo NIRS in queste specifiche popolazioni di neonati a rischio sono pertanto suggeriti.

### *5. Conclusioni*

La presente tesi dimostra come la NIRS possa offrire ai Neonatologi utili informazioni sullo stato di sviluppo e/o danno del SNC. La NIRS è pertanto in grado di effettuare il monitoraggio continuo del "cerebral status" neonatale permettendo la diagnosi precoce della compromissione di tale equilibrio, prima dell'insorgenza di un danno ad alta potenzialità con esiti a breve e a lunga distanza.



## Bibliografia

Allen C.M. , Preterm outcomes research: a critical component of neonatal intensive care, *Mental Retardation and Developmental Disabilities* 2002; 8:221-233.

American College of Obstetricians and Gynecologist ACOG committed opinion no.560, Medically indicated late- preterm and early pre term deliveries, committed opinion no.560, Medically indicated late- preterm and early pre term deliveries, "Obstet e Gynecol." 12, 2013, pp 908.

Beer A., Bestimmung der Absorption des rothen Lichts in farbigen Flüssigkeiten, "Ann. Phys. u. Chem" , 163, 1852, pp 78.

Behrman R.E., Butler A.S., Preterm Birth: Causes , Consequences and Prevention, The national Academies Press, Washington Dc, 2007

Bhutta A.T., Cleves M.A., Casey P.H., Cradock M.M., Anand K.J. Cognitive and behavioral outcomes of school-aged children who were born preterm: a meta analysis. *JAMA* , 288, 2002, pp 728.

Boylan G., Burgoine L., Moore C., O' Flaherty B., Rennie J., International survey of EEG use in neonatal intensive care unit, "An. Acta Paediatr. 99", 2010, pp 66-70 .

Campbell S., Thomas A., Ultrasound measurement of the fetal head to abdomen circumferences ratio in the assessment of growth retardation, " Br J Obstet Gynecolog", 84, 1977, pp 165-174.

Cowan FM; Graça AM, Geraldo AF, Cardoso K,. Preterm cerebellum at term age:ultrasound measurements are not different from infants born at term. *Pediatr Res.* 2013 Dec;74(6):698-704. doi: 10.1038/pr.2013.154.

De Vries L., Rennie J.M., Preterm brain injury. *Textbook of neonatology*, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1999, pp 1252-1271.

Donohue, Health-Related Quality of Life of Preterm Children and Their Caregivers, *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Review*; 2002;8:293-297.

Engle W.A., Thomaskek K.M., Wallman C., Committee on Fetus and Newborn, American Accademy of Pediatrics, Late –preterm infants: a population at risk, "Pediatrics" 120 ,2007, pp 1390.

Fung Y. C., *Biomechanics: circulation*, Springer, New York, 1997.



- Greisen G., Is near-infrared spectroscopy living up to its promises?, "Semin Fetal, Neonatal Med.", 11, 2006, pp 498-502.
- Hack M., Fanaroff A.A., Outcome of children of extremely low birthweight and gestational age in the 1990s, *Semin Neonatol* 2000, 5, pp 89-106.
- Hamilton B.E. , Hoyert D.L. , Martin J.A. , et al. , Annual summary of vital statistics: 2010-2011, "Pediatrics", 131, 2013, pp 548.
- Hamrick SE, Miller SP, Leonard C, Glidden DV, Goldstein R, Ramaswamy V, Piecuch R, Ferriero DM. Trends in severe brain injury and neurodevelopmental outcome in premature newborn infants: the role of cystic periventricular leukomalacia. *J Pediatr.* 2004 Nov;145(5):593-9.
- Ito Y., Kennan R.P., Watanabe E., Koizumi H., Assessment of heating effects in skin during continuous wave near infrared spectroscopy., "J Biomed Opt.", 5 (4) Oct, 2000, pp 383-90.
- Kinney Hannah C., MD, The near -term, (late preterm) Human Brain and Risk for Periventricular Leukomalacia: A Review, "Seminars in Perinatology" , 2006, pp 81-88.
- Ku D. N., Blood flow in arteries, "Annu. Rev. Fluid. Mech." 29, 1997, pp 399-434.
- Leone A., Ersfeld P., Adams M. et al. Neonatal Morbidity in singleton late preterm infants compared with full-term infants, "Acta Paediatr", 101,2012, pp 6.
- LS H., Newborn Individualized Developmental Care and Assessment Program (NIDCAP): New frontier for neonatal and perinatal medicine *Journal of Neonatal Perinatal Medicine* 2 ; 2009 13 5-147.
- Menke J. , Voss U. , Moller G., Jorch G., . Reproducibility of cerebral near infrared spectroscopy in neonates, "Biol Neonate" 83,pp 6-11.
- Naulaers G., Morren G., Van Huffel S., Casaer P., Devlieger H., Cerebral tissue oxygenation index in very premature infants, *Arch. Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 87, 2002; pp 189-192.
- Owen-Reece H., Smith M., Elwell C.E., Goldstone JC., Near infrared spectroscopy "Br Anaesth.", 82, 1999, pp 418-26.
- Pirastru M., Manca L., Di Suni MP., Speziga S.M., Masala B., Hemoglobin , [s.l. ], [s.n.], 2004 pp 297-303.
- Prechtl H.F.R., Assessment methods for the newborn infant: a critical evaluation, In: Stratton D (ed). *Psychobiology of human newborn*. Wiley, Chichester, 1982; 21-52.
- Sannia A, Natalizia AR, Parodi A, Malova M, Fumagalli M, Rossi A, Ramenghi LA. Different gestational ages and changing vulnerability of the premature brain. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013 Aug 23.



Sannia A, Risso FM, Zimmermann LJ, Gavilanes AW, Vles HJ, Gazzolo D. S100B urine concentrations in late preterm infants are gestational age and gender dependent. *Clin Chim Acta*. 2013 Feb 18;417:31-4.

Spong C.Y., Mercer B.M., Dalton M. et al., Timing of indicated late –preterm and early- term birth, "Obstetricians and Gynecologist" 118, 2011, pp 323.

Toet M.C., Lemmers P., Brain monitoring in neonates, "Early Hum. Dev.", 85, 2009, pp 77-84.

Van Bel F., Lemmers P., Naulaers G., Monitoring neonatal regional cerebral oxygen saturation in clinical practice: value and pitfalls, "Neonatology", 94,2008, pp 237-44.

Volpe J.J. , Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infant, "Pediatr.Res.",50, 2001, pp 553-562.

Wang M.L., Dorer D.J., Fleming M.P., Catlin E.A., Clinical outcomes of near-term infants," *Pediatrics*", 114,2004, pp 372.

Wilson-Costello D., Friedman H., Fanaroff A.A., Hack M., Improved survival rates with increased neurodevelopmental disability for extremely low birth weight infants in the 1990s, "Pediatrics", 115, 2005, 1997; pp 1003.