



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

Direttore: Ch.mo Prof. Eugenio Baraldi

U.O.C. PATOLOGIA NEONATALE E TERAPIA INTENSIVA NEONATALE

Direttore: Ch.mo Prof. Eugenio Baraldi

TESI DI LAUREA

**GESTIONE E VALUTAZIONE DEGLI OUTCOMES DEI NEONATI CON
ENCEFALOPATIA IPOSSICO ISCHEMICA SOTTOPOSTI AD IPOTERMIA
TERAPEUTICA TRATTATI PRESSO LA TERAPIA INTENSIVA
NEONATALE DI PADOVA**

RELATORE: Ch.mo Prof. Eugenio Baraldi

CORRELATRICE: Dott.ssa Maria Elena Cavicchiolo

LAUREANDA: Irene Berto

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

| | |
|---|----|
| RIASSUNTO | 1 |
| INTRODUZIONE | 5 |
| 1. ASFISSIA PERINATALE ED ENCEFALOPATIA IPOSSICO-ISCHEMICA | 5 |
| 1.1 Epidemiologia | 5 |
| 1.2 Definizione di asfissia perinatale | 5 |
| 1.3 Eziologia dell'evento asfittico | 7 |
| 1.4 Fisiopatologia dell'asfissia perinatale | 8 |
| 1.5 Danno multiorgano come conseguenza dell'evento asfittico | 10 |
| 1.6 Definizione e fisiopatologia di encefalopatia ipossico-ischemica | 12 |
| 1.7 Grado di severità di EII | 15 |
| 1.8 Imaging cerebrale | 18 |
| 1.9 Sedi di danno cerebrale | 20 |
| 1.10 Neurofisiologia | 22 |
| 1.11 Management del neonato asfittico | 25 |
| 2. IPOTERMIA TERAPEUTICA | 28 |
| 2.1 Meccanismo d'azione | 29 |
| 2.2 Criteri di inclusione per il trattamento con ipotermia attiva | 31 |
| 2.3 Condizioni particolari | 32 |
| 2.4 Monitoraggio e potenziali effetti avversi | 35 |
| 2.5 Altre strategie neuroprotettive | 38 |
| 3. PROGNOSI e FOLLOW-UP | 39 |
| 3.1 Fattori prognostici clinici | 39 |
| 3.2 Fattori prognostici neurofisiologici | 39 |
| 3.3 Prognosi correlata a RM cerebrale | 40 |
| 3.4 Follow-up | 40 |
| OBIETTIVI DELLO STUDIO | 43 |
| MATERIALI E METODI | 43 |
| ANALISI STATISTICA | 45 |
| RISULTATI | 47 |
| DISCUSSIONE | 64 |

| | |
|--|----|
| Profilo di sicurezza dell'ipotermia terapeutica | 65 |
| Valutazione outcome a distanza | 66 |
| Confronto tra due coorti | 68 |
| CONCLUSIONI | 71 |
| BIBLIOGRAFIA | 72 |

RIASSUNTO

Background: L'asfissia perinatale è una delle principali condizioni patologiche responsabili di mortalità e morbilità neonatale. L'encefalopatia ipossico-ischemica (EII), come diretta conseguenza del danno neuronale ipossico, è associata ad elevata mortalità e nel 25% dei sopravvissuti causa importante disabilità neurologica a lungo termine. L'ipoteremia attiva rappresenta lo *standard of care* per la gestione dei neonati con diagnosi di EII di grado moderato-severo e riduce del 25% il rischio di morte e disabilità neurologiche maggiori a 18 mesi nei pazienti trattati. Per via della complessità del livello di assistenza richiesto, è disponibile ed eseguita solo in centri di Neonatologia di Terzo Livello che possano garantire supporto continuativo e specialistico. La Terapia Intensiva Neonatale e l'U.O.C. di Patologia Neonatale dell'Azienda Ospedaliera di Padova sono centro di riferimento per l'ipoteremia terapeutica per i presidi Ospedalieri del Veneto Orientale. Nella definizione della prognosi dei pazienti con diagnosi di asfissia perinatale e EII riveste un ruolo centrale l'esecuzione di neuroimaging e indagini elettrofisiologiche. È importante inserire i pazienti con diagnosi di EII in un programma di follow-up per la valutazione del neurosviluppo e l'eventuale necessità di interventi di supporto.

Obiettivi: Obiettivo primario: valutare outcome neurologico a distanza dei neonati con diagnosi di EII trattati con ipoteremia attiva presso la U.O.C. Terapia Intensiva e Patologia Neonatale di Padova nel periodo dal 2015 al 2022. Obiettivi secondari: valutare i cambiamenti di pratica clinica nella gestione dei pazienti affetti da EII tra i periodi 2015-2017 e 2020-2022; valutare fattori prognostici precoci che possano correlare con l'esito neurologico a distanza.

Materiali e metodi: Studio osservazionale analitico di revisione retrospettiva dei casi di neonati con diagnosi di encefalopatia ipossico-ischemica, trattati con ipoteremia terapeutica presso l'U.O.C. di Terapia Intensiva Neonatale dell'Azienda Ospedaliera di Padova, nel periodo compreso tra 2015 e 2022. Creazione di un database, raccolta di dati anagrafici prenatali, perinatali e postnatali, inclusi i dati del follow-up a 12 e 24 mesi tramite valutazione con scala di Bayley III. Suddivisione in due coorti di pazienti, con omogenee caratteristiche basali, sottoposti a ipoteremia nati tra il 2015-2017 e 2020-

2022 e confronto dei dati prenatali, perinatali e postnatali per una valutazione dei cambiamenti nella pratica clinica della gestione dei neonati con EII. Analisi statistica multivariata tramite network analysis per le variabili: Sarnat a 60 minuti, CFM patologico, EEG patologico, RMN patologica, punteggio delle scale di Bayley III cognitiva, del linguaggio e motoria. Significatività statistica considerata $p \leq 0,05$.

Risultati: Nel periodo considerato sono stati ricoverati presso la Terapia Intensiva Neonatale di Padova 130 neonati con diagnosi di asfissia perinatale, di questi 108 (83%) sono stati sottoposti a ipotermia (25% inborn e 75% outborn). Il 69% (n=74) non ha presentato effetti avversi secondari al trattamento ipotermico, il 5% (n=6) ha richiesto la sospensione anticipata del trattamento a causa degli effetti avversi. Il 63% e il 56% ha eseguito il follow-up ambulatoriale rispettivamente a 12 e 24 mesi; tra questi, un punteggio associato ad un buon sviluppo globale (> 85) è stato ottenuto in percentuali in linea con i dati della letteratura. Dal confronto delle due coorti è emersa una tendenza negli ultimi anni a sottoporre a valutazione con CFM un maggior numero di neonati con valutazione neurologica secondo Sarnat di EII di grado lieve, a sostegno dell'importanza della valutazione neurofisiologica per definire la candidabilità al trattamento ipotermico. Dall'analisi statistica multivariata è emersa un'associazione significativa ($p < 0,05$) inversamente proporzionale tra CFM patologico e score cognitivo a distanza, suggerendo il ruolo del CFM come fattore prognostico precoce.

Conclusioni: L'ipotermia terapeutica rappresenta lo standard of care per la gestione dei neonati con diagnosi di EII, garantendo buoni outcomes al follow-up neurologico. È stata confermata l'importanza del tracciato CFM per la formulazione della prognosi a breve e lungo termine e il ruolo decisivo della valutazione neurofisiologica come criterio di inclusione per il trattamento ipotermico.

ABSTRACT

Background: Perinatal asphyxia is a major pathological condition responsible for neonatal mortality and morbidity. Hypoxic-ischemic encephalopathy (EII), as a direct consequence of hypoxic neuronal damage, is associated with high mortality and in 25% of survivors causes significant long-term neurological disability. Therapeutic hypothermia represents the only therapeutic strategy for the management of infants diagnosed with moderate-to-severe EII and reduces the risk of death and major neurological disability by 25% at 18 months in treated patients. Due to the complexity of the level of care required, it is only available and performed in Level III Neonatology centers that can provide ongoing and specialized support. The Neonatal Intensive Care Unit and the U.O.C. of Neonatal Pathology of the Azienda Ospedaliera di Padova are a reference center for therapeutic hypothermia for the hospital principals of the Eastern Veneto region. In defining the prognosis of patients diagnosed with perinatal asphyxia and EII, the performance of neuroimaging and electrophysiological investigations plays a central role. It is important to include patients diagnosed with EII in a follow-up program to assess neurodevelopment and the possible need for supportive interventions.

Objectives: Primary objective: to evaluate long term neurological outcomes of infants diagnosed with EII treated with therapeutic hypothermia at the U.O.C. Intensive Care and Neonatal Pathology Unit in Padua during the period from 2015 to 2022. Secondary objectives: to evaluate clinical practice changes in the management of EII patients between the periods 2015-2017 and 2020-2022; to evaluate early prognostic factors that may correlate with distant neurological outcome.

Methods: Observational analytical retrospective review study of cases of infants diagnosed with hypoxic-ischemic encephalopathy, treated with therapeutic hypothermia at the Neonatal Intensive Care Unit of the Azienda Ospedaliera di Padova Hospital in the period between 2015 and 2022. Database creation, collection of prenatal, perinatal, and postnatal data, including follow-up data at 12 and 24 months. Division into two cohorts of patients undergoing hypothermia born between 2015-2017 and 2020-2022 and comparison of prenatal, perinatal and postnatal data for an

assessment of changes in clinical practice of management of infants with EII. Multivariate statistical analysis by network analysis for variables: 60 minutes Sarnat, pathological CFM, pathological EEG, pathological MRI, Bayley III cognitive, language and motor scales scores. Statistical significance considered $p \leq 0.05$.

Results: 130 infants diagnosed with asphyxia were admitted during the period under review, of these 108 (83%) underwent hypothermia (25% inborn and 75% outborn). 69% (n=74) had no adverse effects secondary to hypothermic treatment, 5% (n=6) required early discontinuation of treatment due to adverse effects. 63% and 56% performed outpatient follow-up at 12 and 24 months, respectively; among them, a score associated with good overall development was obtained % in line with literature data. Comparison of the two cohorts revealed a trend in recent years for more infants with neurological evaluation according to Sarnat of mild EII to be evaluated with CFM, supporting the importance of neurophysiological evaluation in defining candidacy for hypothermic treatment. Multivariate statistical analysis revealed a significant ($p < 0.05$) inversely proportional association between pathological CFM and distant cognitive score, suggesting the role of CFM as an early prognostic factor.

Conclusions: Therapeutic hypothermia represents the standard of care for the management of infants diagnosed with EII, ensuring good outcomes at long term neurological follow-up. The importance of CFM tracing in formulating short- and long-term prognosis and the decisive role of neurophysiological assessment as an inclusion criterion for hypothermic treatment was confirmed.

INTRODUZIONE

1. ASFISSIA PERINATALE ED ENCEFALOPATIA IPOSSICO-ISCHEMICA

1.1 Epidemiologia

L'incidenza di asfissia perinatale severa è di 1-4/1000 nati vivi nei paesi sviluppati dove è garantita un'adeguata assistenza ostetrica e neonatale, mentre nei paesi in via di sviluppo l'incidenza stimata è di 5-10/1000 nati vivi¹. Secondo i dati del WHO il 23% delle morti neonatali e il 10% delle morti infantili sotto i 5 anni è stimato verificarsi a causa dell'asfissia perinatale², rappresentando la terza causa più frequente di morte neonatale. L'incidenza di encefalopatia ipossico-ischemica (EII) è di circa 1,6/1000 nati vivi³. L'EII moderata-severa è gravata da una mortalità di 10-60% ed è causa di importanti deficit neurologici nel 25% dei sopravvissuti⁴, come ad esempio paralisi cerebrale infantile, ritardo nello sviluppo, compromissione visiva e uditiva e problemi di comportamento e apprendimento⁵. La principale e più grave sequela neurologica nei pazienti sopravvissuti è la paralisi cerebrale infantile di cui l'EII è una delle cause più frequentemente riconosciute (6-23% dei casi)⁶. Negli anni, nonostante l'avanzamento delle tecniche di sorveglianza prenatale e delle cure neonatali, l'incidenza di EII è rimasta invariata. Tuttavia, l'utilizzo dell'ipotermia attiva come strategia di neuroprotezione ha consentito di limitare i danni e migliorare gli outcomes in termini di mortalità e disabilità neurologica.

1.2 Definizione di asfissia perinatale

Il termine asfissia definisce un'alterazione degli scambi gassosi (ossigeno e anidride carbonica) a cui consegue un aumento dei livelli di pCO₂ e l'instaurarsi di un quadro di acidosi respiratoria, seguita da acidosi metabolica per attivazione della via anaerobica del metabolismo glucidico⁷. In seguito a un episodio asfittico si parla di danno "ipossico-ischemico" in quanto si verifica sia una condizione di ipossia per via dell'alterazione degli scambi gassosi, sia di ischemia per via dell'ipotensione che non permette di garantire un'adeguata perfusione d'organo con conseguente sofferenza e danno cellulare e tissutale. L'asfissia "fetale" è la conseguenza della compromissione degli scambi gassosi a livello placentare, prima del parto, mentre l'asfissia "neonatale" è secondaria ad alterazioni cardiorespiratorie del neonato dopo il parto.

Attualmente esistono dei criteri per definire un quadro di asfissia, stabiliti in conformità con i dati presenti in letteratura e con le linee guida della Società Italiana di Neonatologia⁶:

- Indice di Apgar \leq a 5 a 10 minuti di vita o necessità di continuare la rianimazione con ventilazione a pressione positiva a 10 minuti di vita. Il riscontro di tali evidenze è segno di depressione cardiorespiratoria e neurologica.

OPPURE

- Acidosi metabolica evidenziata con rilevazione di $\text{pH} \leq 7$, eccesso di basi \geq a -12 mmol/L su emogasanalisi arterioso cordonale.

La corretta definizione e diagnosi di asfissia perinatale è rilevante al fine di un'adeguata gestione e valutazione prognostica del paziente. Per una valutazione oggettiva che permetta il confronto dei risultati di diversi pazienti, ci si avvale dell'utilizzo di alcune scale. La scala di Apgar ad esempio è la principale utilizzata per valutare le condizioni del neonato alla nascita oltre ad essere uno dei criteri di base di inclusione per il trattamento con ipotermia. Si tratta di un sistema a punteggio universalmente riconosciuto, semplice e facilmente riproducibile, anche se limitato dalla soggettività della rilevazione. Nella valutazione vengono presi in considerazione 5 parametri: frequenza cardiaca, attività respiratoria, tono muscolare, eccitabilità riflessa e colorito. Ad ogni parametro viene assegnato un punteggio da 0 a 2 a seconda delle condizioni del neonato a 1, 5 e 10 minuti dalla nascita. In base della somma dei punteggi ottenuti per ogni parametro, sono definite 3 categorie:

- Punteggio 7-10: neonato sano;
- Punteggio 4-6: neonato moderatamente depresso;
- Punteggio 0-3: neonato gravemente depresso.

Le rilevazioni a 5 e 10 minuti devono essere considerate in relazione alle precedenti. In particolare se a 1 e 5 minuti lo score è maggiore di 7 il neonato è in buone condizioni; se inizialmente è basso ma poi aumenta probabilmente si è trattato di una depressione transitoria con buona prognosi; se il punteggio inizialmente è buono ma

successivamente scende sotto 7 bisogna ricercare problematiche cardiorespiratorie e/o neurologiche. L'indice di Apgar è inoltre utile come strumento prognostico, anche se i risultati degli studi non sono del tutto chiari. Alcuni autori hanno osservato che decesso o disabilità neurologica moderata-severa sono più frequenti, ma non in maniera uniforme, in caso di score di Apgar a 10 minuti <3 ⁸.

Per quanto riguarda la valutazione del pH cordonale, dai dati presenti in letteratura emerge che la prevalenza di acidosi metabolica all'analisi dell'EGA arterioso cordonale, sia del 2% dei parti⁹. Una metanalisi ha dimostrato il valore prognostico del pH arterioso cordonale evidenziando come valori particolarmente ridotti siano significativamente associati a mortalità neonatale, EII, emorragia intraventricolare o leucomalacia periventricolare¹⁰.

1.3 Etiologia dell'evento asfittico

Le condizioni che possono essere causa di asfissia possono essere suddivise, in base al timing di insorgenza, in pre-partum, intra-partum e post-partum^{1,11}. Gli scambi gassosi durante la vita fetale (pre-partum) avvengono attraverso la placenta e la loro qualità dipende dal flusso utero-placentare e dal flusso ombelicale. Alcuni fattori che condizionano questo meccanismo sono: insufficienza o distacco placentare, trasfusioni materno-fetali o feto-fetali, pre-eclampsia o anemia materna o feto IUGR. Queste sono tutte condizioni di ipossia cronica ad esordio in utero associate a una maggior vulnerabilità del feto e ad un maggior rischio di asfissia perinatale e EII nel neonato anche in seguito ad eventi acuti di minore entità e durata. Le cause di pre-partum rappresentano il circa 20% dei casi di asfissia¹². Per quanto riguarda le cause di asfissia intra-partum, alcuni esempi sono: travagli prolungati, iper-stimolazione uterina spontanea o indotta da ossitocina, rottura di utero. Queste condizioni espongono il feto ad eventi di ipossia ripetuta aumentando il rischio di acidosi metabolica fetale, riduzione dell'ossigenazione cerebrale e di conseguenza comparsa di EII. La contrazione uterina in particolare ostacola l'apporto di sangue alle camere inter-villose della placenta che normalmente rappresentano una riserva d'ossigeno che permette, durante le contrazioni fisiologiche, di non alterare la normale ossigenazione del feto. Contrazioni intense o travaglio prolungato possono portare ad un esaurimento delle

riserve di ossigeno della camera intervillosa. Le cause di asfissia intra-partum sono responsabili di circa due terzi dei casi di EII neonatale¹¹. Le cause post-natali di asfissia rappresentano il 10% dei casi¹¹ e possono essere ad esempio ostruzione delle vie aeree (inalazione di meconio), depressione respiratoria da farmaci materni (oppiacei), anomalie cardiache e/o polmonari maggiori o infezioni congenite con quadri di shock¹³. Eventi acuti o iper-acuti che possono essere causa di asfissia possono inoltre essere conseguenza di complicanze ostetriche come prolasso del funicolo, distacco di placenta, rottura uterina, vasa previa, parto distocico o la presenza di nodi veri a livello del cordone ombelicale. Secondo dati in letteratura, circa il 25% dei casi di EII può essere ricondotto a eventi ipossici acuti e iperacuti.

I principali fattori di rischio materni per un evento asfittico sono: diabete soprattutto pre-concezionale, preeclampsia, obesità, ipotiroidismo, corionamnionite, polioidramnios, gravidanza gemellare, pPROM, infezioni¹⁴. Il più importante fattore di rischio fetale è la restrizione della crescita fetale intrauterina (IUGR), condizione associata ad rischio relativo di EII aumentato di 30 volte rispetto a feti con crescita adeguata. Il motivo di tale aumento di rischio è riconducibile alla concomitante insufficienza placentare, riduzione di riserve di glucosio fetali e ridotta capacità fetale di attivare meccanismi di compenso e vie metaboliche alternative per garantire sufficienti substrati energetici al cervello. Altri fattori di rischio fetali/neonatale sono il sesso maschile e la nascita pretermine, sepsi, comorbidità respiratorie¹³.

1.4 Fisiopatologia dell'asfissia perinatale

Per un corretto inquadramento e gestione di un evento asfittico è importante valutare il tempo di comparsa (pre-natale, peri-natale o post-natale), la durata (evento ipossico acuto, evento ipossico ripetuto, ipossia cronica) e la severità del danno in termini di grado di EII e di danno d'organo sistemico. Questi parametri consentono di definire l'impatto dell'evento ipossico sull'emodinamica e sulla prognosi a breve e lungo termine. Un feto sano è in grado di adattarsi a condizioni di ipossia lieve o transitoria (contrazioni uterine durante il travaglio) riducendo il consumo di ossigeno grazie alla presenza di riserve energetiche anaerobiche. Inoltre, in presenza di una condizione di acidosi, fisiologicamente aumenta il rilascio di ossigeno da parte dell'emoglobina, che

funziona inoltre da sistema tampone degli ioni idrogeno. Studi di fisiologia hanno permesso di distinguere tre fasi di adattamento cardiovascolare nel feto, attraverso l'attivazione di meccanismi di compenso in risposta a un insulto ipossico. La prima rapida risposta al calo della pO_2 è l'attivazione di un riflesso chemocettore periferico che determina la riduzione della richiesta e consumo di ossigeno attraverso l'aumento dell'attività parasimpatica con conseguente riduzione della frequenza cardiaca fetale. La seconda fase di adattamento all'asfissia è sostenuta dall'attività di mediatori tra cui catecolamine, cortisolo, angiotensina, vasopressina e neuropeptide Y che aumentano il tono del sistema simpatico con conseguente vasocostrizione periferica che consente di redistribuire e centralizzare il flusso sanguigno verso gli organi nobili¹⁵. Come ultima fase, in caso di fallimento dei precedenti meccanismi di compenso, si assiste ad un progressivo scompenso ipossico per deplezione delle riserve energetiche anaerobiche, disfunzione miocardica, ipotensione periferica e conseguente ipoperfusione cerebrale¹⁶.

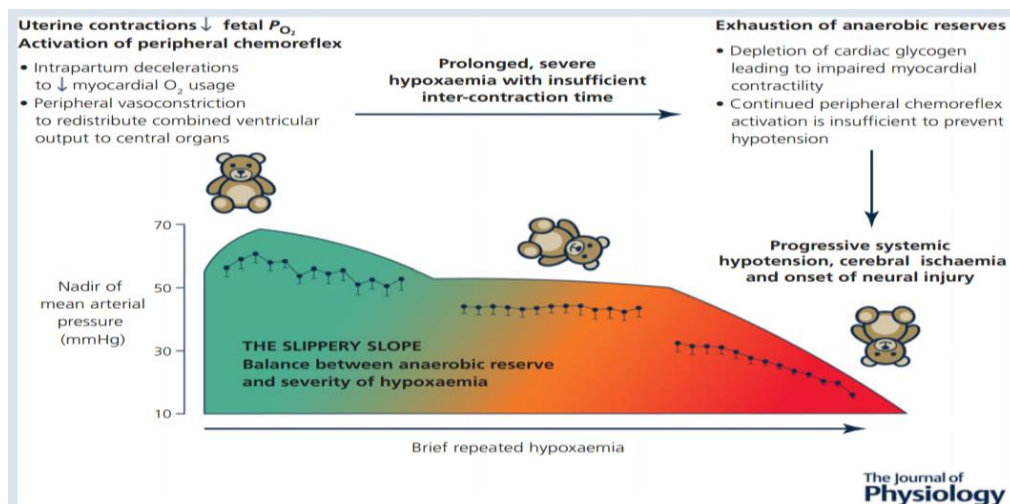


Figura 1. Fisiopatologia dell'asfissia perinatale (A. Lear, *The Journal of Physiology*, 2018).

Il danno cerebrale quindi si verifica in una condizione di acidosi metabolica pur non essendone tuttavia una diretta conseguenza: nonostante l'acidosi, il danno non si verifica finché è garantito un metabolismo neuronale basale tramite sufficiente apporto di glucosio. Inoltre, in caso di un episodio di asfissia acuta massiva, l'incapacità di garantire sufficiente apporto ematico e di glucosio ai tessuti può esitare in danno

cerebrale pur in assenza di una condizione di acidosi metabolica⁷. Il danno cerebrale è quindi la conseguenza dell'ipotensione risultante dallo scompenso dei meccanismi fisiologici di adattamento a episodi di ipossia severa e prolungata o ripetuti e sostenuti.

1.5 Danno multiorgano come conseguenza dell'evento asfittico

Oltre al danno cerebrale, l'impatto sull'emodinamica di un evento ipossico-ischemico può avere conseguenze a livello sistemico con la possibilità di condurre a un danno multiorgano. Nelle fasi di adattamento all'asfissia, il flusso ematico è redistribuito nell'organismo per garantire la perfusione degli organi nobili come encefalo, cuore e surreni. Questo avviene a discapito di altri organi come rene, fegato, tratto gastrointestinale e cute in cui la vascolarizzazione risulta ridotta attraverso una vasocostrizione locale che se protratta nel tempo causa danno cellulare e disfunzione tissutale¹⁷. Quindi il compenso di un evento ipossico per evitare danni cerebrali, può condurre all'alterazione cellulare e tissutale di altri organi e apparati con grado di severità che dipende dalla durata e gravità dell'insulto ischemico. Come conseguenza di un evento asfittico, l'encefalopatia ipossico ischemica si verifica in circa il 30% dei casi ma solo nel 15% dei casi il cervello risulta l'unico organo coinvolto. In letteratura i dati sulla prevalenza dell'interessamento dei diversi organi e apparati risultano variabili a seconda dei parametri utilizzati per la definizione del danno d'organo. Tuttavia emerge che l'interessamento **renale** è più frequente: in circa il 55% dei casi di asfissia perinatale si rileva danno tubulare acuto, oliguria e aumento dell'urea e creatinina i cui livelli non aumentano finché la perdita della funzione renale non è del 25-50%. Il rene risulta un organo particolarmente vulnerabile al danno da ipoperfusione per diversi motivi: la presenza di elevate resistenze vascolari durante la vita intrauterina, l'elevata attività della renina plasmatica e il basso tasso di filtrazione glomerulare¹⁸. La principale lesione renale è la necrosi tubulare acuta; in casi gravi si può arrivare a necrosi corticale diffusa. L'infiltrazione dei neutrofilici circolanti a livello del tessuto renale ischemico e la liberazione di prodotti citotossici può favorire la progressione della lesione danneggiando non solo le cellule endoteliali ma anche tutto il tessuto renale¹⁹. Secondariamente alla lesione renale acuta oligurica, il neonato asfittico è a rischio di sviluppare iponatremia dovuta alla ritenzione di acqua e ridotto assorbimento di sodio a livello tubulare²⁰. Il **sistema cardiovascolare** è coinvolto nel

25% dei casi e la vulnerabilità è dovuta all’immaturità del tessuto muscolare del neonato che sostiene una risposta inadeguata durante l’episodio asfittico²¹. Il danno cardiaco complica ulteriormente lo stato emodinamico del paziente contribuendo ad aumentare la mortalità e morbilità²². Il danno cardiaco di manifesta con necessità di supporto farmacologico nelle prime due ore di vita²³, ischemia miocardica transitoria definita “miocardiopatia ipossica”¹⁶ con aumento della troponina I, depressione del tratto ST nel precordio centrale e inversione dell’onda T nel precordio sinistro, alterazioni della funzionalità cardiaca nei casi più severi, soprattutto del ventricolo destro, e ipertensione polmonare. Alcuni studi in letteratura hanno valutato istologicamente il danno miocardico in seguito a asfissia perinatale osservando le cellule cardiache attraverso la microscopia elettronica ed evidenziando alterazioni degenerative come allungamento e rottura di alcune miofibrille e alterazioni a livello mitocondriale²⁴. È stato confermato che il danno miocardico sia correlato ad un’alterazione della catena respiratoria mitocondriale probabilmente secondario ad un sovraccarico intracellulare di calcio²². Il **sistema respiratorio** è interessato nel 23% dei casi con ipertensione polmonare persistente, emorragia polmonare, edema polmonare (secondario a disfunzione miocardica e all’aspirazione di meconio), distress respiratorio. Con incidenza molto variabile, dovuta a differenti definizioni di disfunzione epatica, può presentarsi inoltre un danno **epatico**. Diversi studi condotti su modelli animali²⁵ e studi su autopsie condotte su pazienti deceduti per EII perinatale²⁶ hanno evidenziato diversi reperti patologici a livello epatico: congestione, sostituzione adiposa, emorragie subcapsulari, aree di necrosi centrolobulare, infiltrati di cellule infiammatorie e altre lesioni necrotico-ischemiche. Inoltre, in lattanti esposti ad una episodio asfittico è stato evidenziato lo sviluppo di ipoglicemia da inadeguate riserve di glicogeno, nei casi più gravi, alterata azione metabolica epatica (ridotto metabolismo ed eliminazione dei farmaci) o alterazione della coagulazione con PT e INR significativamente elevati come conseguenza di CID²⁷. L’incidenza di danno da ipoperfusione a livello del **tratto gastrointestinale** è di circa il 29%²⁸ e può presentarsi con vomito, diarrea, emorragia gastrointestinale fino allo sviluppo di enterocolite necrotizzante²⁹. L’intestino è uno degli organi maggiormente sensibili all’ischemia essendo irrorato dalle due arterie mesenteriche, siti predisposti alla sofferenza

secondaria all'asfissia perinatale³⁰. Inoltre l'intestino immaturo di un neonato presenta un'importante domanda metabolica e il sistema di controllo delle resistenze vascolari è ancora poco sviluppato. Nella maggior parte dei casi di asfissia perinatale l'interessamento di questi organi, a differenza di quello cerebrale, è transitorio e non condiziona significativamente la prognosi a lungo termine. In letteratura sono presenti alcuni studi che evidenziano una correlazione tra i marcatori di danno d'organo e outcomes a breve e lungo termine di eventi di asfissia perinatale. In particolare esiste una correlazione tra l'aumento precoce della troponina I e la severità di EII, di disfunzione miocardica e di alterato neurosviluppo a 18 mesi³¹.

1.6 Definizione e fisiopatologia di encefalopatia ipossico-ischemica

Un evento di asfissia perinatale determina un danno ipossico-ischemico a carico del sistema nervoso centrale e di altri organi e apparati. A livello del tessuto cerebrale, l'insulto ischemico può esitare in EII ma anche in edema cerebrale, infarto cerebrale e emorragia cerebrale. L'encefalopatia ipossico-ischemica neonatale è definita come una condizione patologica di encefalopatia, intesa come alterazione della coscienza, disfunzione delle funzioni corticali, del tronco encefalico, autonome e motorie, in presenza di una sottostante specifica causa di natura ipossico ischemica. Se si verifica prima delle 35 settimane si parla di leucomalacia periventricolare³².

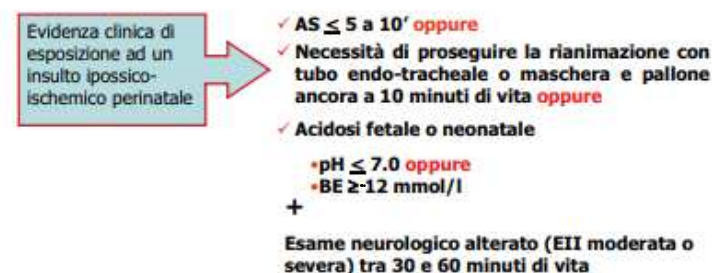


Figura 2. Definizione di encefalopatia ipossico-ischemica (Società Italiana di Neonatologia, 2012)

La diagnosi si basa quindi sull'identificazione di un evento di asfissia peri-partum e la presenza di encefalopatia di cui è necessario definire il grado di severità. Tali

valutazioni risultano fondamentali allo scopo di individuare tempestivamente i pazienti candidabili al trattamento ipotermico.

In letteratura, studi di fisiopatologia su modelli animali e studi clinici su pazienti, hanno permesso di comprendere più precisamente i meccanismi patogenetici alla base dell'EII. È stato dimostrato che il danno neuronale non avviene solo nel momento dell'insulto ischemico ma sia piuttosto un processo continuativo che evolve in un lasso di tempo di ore o giorni dall'evento ipossico e che comprende diverse fasi e diversi mediatori di danno cellulare e tissutale^{33,34}. Sono state descritte tre fasi che portano al danno cellulare del tessuto cerebrale alla base della fisiopatologia dell'EII.

Una prima fase di danno si verifica in acuto nel momento immediatamente successivo all'evento ipossico ischemico. È causata dalla successione di acidosi metabolica, riduzione della contrattilità cardiaca, ipotensione arteriosa e riduzione del flusso cerebrale. Di conseguenza l'arresto dell'apporto di ossigeno e nutrimenti al cervello porta ad un rapido consumo dei metaboliti ad alta energia, riduzione della produzione di ATP e aumento dei lattati ematici³⁵. Il deficit di riserve energetiche determina la disfunzione delle pompe ioniche ATP-dipendenti, la progressiva riduzione di integrità della membrana plasmatica neuronale (l'entità della perossidazione dei fosfolipidi della membrana cellulare è direttamente proporzionale al deficit di ATP) con conseguente ingresso di calcio, danno mitocondriale, edema citotossico e perdita della capacità di re-uptake di mediatori eccitatori da parte degli astrociti con conseguente accumulo di mediatori di depolarizzazione cellulare. Il risultato di questa sequenza di eventi, soprattutto in seguito a un evento asfittico severo e prolungato, è la necrosi neuronale diretta³⁶. Inoltre in questa prima fase si assiste alla produzione di radicali liberi dell'ossigeno come conseguenza del danno di membrana e mitocondriale. Durante questa fase, la possibilità di intervento per arginare l'evoluzione del danno cerebrale è molto limitata. La fase successiva è definita fase latente, inizia circa 30 minuti dopo l'evento acuto ed ha una durata di circa 6 ore. Questa fase è successiva alla riperfusione cerebrale per cui avviene una parziale ripresa del metabolismo ossidativo, l'apoptosi delle cellule neuronali danneggiate e l'instaurarsi di uno stato infiammatorio secondario. Questa fase rappresenta la finestra temporale in cui è possibile intervenire

con diverse strategie terapeutiche al fine di evitare la progressione del danno cerebrale, prima fra tutte l'ipotermia terapeutica. Successivamente segue la fase secondaria del danno cerebrale la cui entità è correlata alla severità del danno primario³⁷ e si verifica da 6 a 72 ore dall'evento acuto. Questa fase è caratterizzata dalla presenza di stress ossidativo, perdita della funzionalità mitocondriale con incapacità di utilizzare l'ossigeno nonostante un'adeguata perfusione cerebrale, eccitotossicità cerebrale, edema citotossico e morte cellulare. Il danno cellulare è mediato dai radicali liberi dell'ossigeno e dall'accumulo di neurotrasmettitori eccitatori che determinano morte cellulare sia per apoptosi che per necrosi a seconda della gravità dell'insulto, alterazione della barriera ematoencefalica⁸⁰. La progressione di questa fase determina l'attivazione della cascata infiammatoria che accentua la necrosi e apoptosi neuronale. In questo periodo è possibile la comparsa di crisi convulsive⁵. Infine la patogenesi dell'EII è caratterizzata da una fase terziaria di danno cerebrale che può insorgere e protrarsi per un periodo di mesi o anni dall'evento ipossico acuto e rappresenta un'evoluzione del danno determinata dalla persistenza di infiammazione e gliosi. Durante questa fase si verificano fenomeni di infiammazione cronica, difetti nella produzione della mielina, blocco del processo di maturazione cellulare degli oligodendrociti alterazioni della neurogenesi, sinaptogenesi e crescita assonale con conseguente ridotta plasticità del tessuto cerebrale, e aumentata suscettibilità alle crisi^{33,38}. In particolare l'afflusso di leucociti e l'attivazione della microglia determinano il rilascio di citochine infiammatorie (TNF α , IL1b e IL6) responsabili dell'apoptosi neuronale. I livelli di interleuchine infiammatorie e di TNF α correlano sia con la severità dell'EII che con la prognosi³⁹.

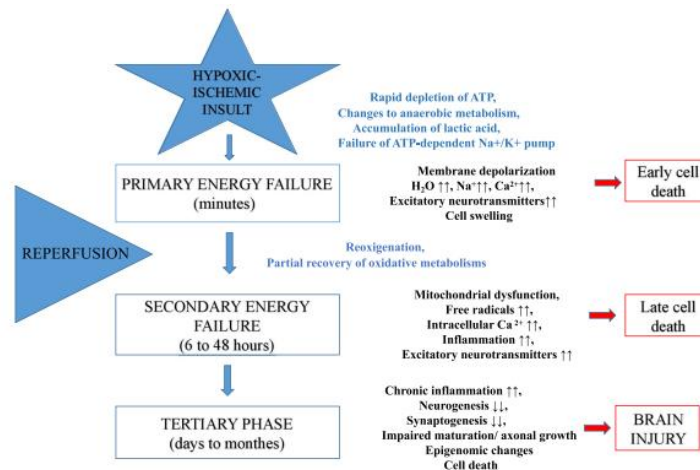


Figura 3. Fisiopatologia dell'encefalopatia ipossico-ischemica (Dumbuya et al. *Journal of Neuroinflammation*, 2021)

Per quanto riguarda l'impatto clinico dell'insulto ipossico, le principali variabili che condizionano la prognosi neurologica a 1 e 4 anni sono il lasso di tempo intercorrente tra l'evento acuto e la fase latente e l'entità e severità del danno neuronale durante la fase secondaria³⁵. In particolare, pazienti che non mostrano un'iniziale e parziale ripresa del metabolismo cellulare durante la fase latente, sono predisposti a uno sviluppo neurologico maggiormente patologico⁴⁰. La durata della deplezione di riserve energetiche durante la prima fase dopo l'insulto ipossico ischemico è associata inoltre al riscontro di un danno cerebrale a livello istologico, dimostrando come sia un fattore chiave coinvolto nel processo di morte cellulare⁴¹.

1.7 Grado di severità di EII

La definizione del grado di severità dell'EII si basa sulla valutazione secondo Sarnat e Sarnat, risultato di una precisa valutazione di pazienti con diagnosi di EII distinti sulla base di un attento esame clinico neurologico, presenza di anomalie rilevate all'EEG e i relativi outcomes. Lo studio pubblicato nel 1976 da H. B. Sarnat e M. S. Sarnat inizialmente descrisse tre stadi progressivi di gravità di EII⁴²:

Stadio 1 (lieve): dura meno di 24 ore ed è caratterizzato dalla presenza di iper-allerta, persistenza del riflesso di Moro vivace, alterazioni del simpatico (midriasi, tachicardia) e tracciato EEG nella norma.

Stadio 2 (moderato): caratterizzato da ottundimento, ipotonia con debole suzione, importante flessione distale, miosi, bradicardia e crisi multifocali: l'EEG è ipovoltato e mostra pattern periodici a volte preceduti da attività delta continua.

Stadio 3 (severo): i neonati sono stuporosi, flaccidi e le funzioni autonome e del tronco encefalico sono sopresse, pupille piccole e poco reagenti alla luce, frequenza cardiaca variabile, riflesso di Moro assente, crisi epilettiche: l'EEG è ipovoltato, inattivo o parossistico e presenta crisi con dissociazione elettro-clinica.

| | Stage 1 | Stage 2 | Stage 3 |
|-----------------------------------|-------------------------|---|---|
| Level of consciousness | Hyperalert | Lethargic or obtunded | Stuporous |
| Neuromuscular control | | | |
| Muscle tone | Normal | Mild hypotonia | Flaccid |
| Posture | Mild distal flexion | Strong distal flexion | Intermittent decerebration |
| Stretch reflexes | Overactive | Overactive | Decreased or absent |
| Segmental myoclonus | Present | Present | Absent |
| Complex reflexes | | | |
| Suck | Weak | Weak or absent | Absent |
| Moro | Strong; low threshold | Weak; incomplete; high threshold | Absent |
| Oculovestibular | Normal | Overactive | Weak or absent |
| Tonic neck | Slight | Strong | Absent |
| Autonomic function | Generalized sympathetic | Generalized parasympathetic | Both systems depressed |
| Pupils | Mydriasis | Miosis | Variable; often unequal; poor light reflex |
| Heart rate | Tachycardia | Bradycardia | Variable |
| Bronchial and salivary secretions | Sparse | Profuse | Variable |
| Gastrointestinal motility | Normal or decreased | Increased; diarrhea | Variable |
| Seizures | None | Common; focal or multifocal | Uncommon (excluding decerebration) |
| Electroencephalogram findings | Normal (awake) | Early: low-voltage continuous delta and theta. Later: periodic pattern (awake). Seizures: focal 1-to 1½-Hz spike-and-wave | Early: periodic pattern with isopotential phases. Later: totally isopotential |
| Duration | Less than 24 hr | Two to 14 days | Hours to weeks |

Figura 4. I tre stadi clinici di encefalopatia ipossico-ischemica (Sarnat and Sarnat, 1976).

Neonati che non rientrano nello stadio 3 e che presentano segni dello stadio 2 per meno di 5 giorni appaiono normali in tarda infanzia. D'altra parte la persistenza dei segni dello stadio 2 o il fallimento della normalizzazione dell'EEG è associato a compromissione neurologica tardiva o decesso. Pazienti con EII di grado moderato hanno un rischio di mortalità del 10% e tra i sopravvissuti il 30% è a rischio di disabilità neurologiche; per i neonati con EII di grado severo il rischio di mortalità è 60% e circa il 100% sviluppa disabilità neurologiche. La stadiazione clinica alla nascita e nelle ore immediatamente successive, è di fondamentale importanza per determinare la severità del danno ipossico-ischemico, per iniziare il trattamento più appropriato e per una

valutazione prognostica. Un altro importante fattore prognostico è l'evoluzione del quadro neurologico con passaggio da uno stadio all'altro di severità⁴³.

I segni clinici di EII possono essere quindi classificati in base alla severità:

- Segni della presenza di encefalopatia: stato di iperallerta, alterazioni elettrofisiologiche all'aEEG o EEG;
- Alterazioni della funzione del tronco encefalico e dei nervi cranici: apnee o alterazioni respiratorie, assenti o anomali riflessi truncali (pupillari, conreali, oculo-cefalici, della tosse, *gag reflex*), alterati movimenti oculari, deficit della muscolatura facciale con conseguente difficoltà nella suzione;
- Alterazioni motorie: postura asimetrica, ipotonia, riflessi neonatali ipoevocabili, spasticità, ipertonìa, riflessi scattanti in caso di evoluzione del danno cerebrale;
- Comparsa di episodi di crisi convulsive (in particolare in caso di EII moderata e severa).

L'esordio delle crisi convulsive avviene entro 24 ore dall'evento ipossico ischemico, durante la fase secondaria di danno cerebrale e l'esordio è tanto più precoce quanto più è grave l'asfissia. Dai dati presenti in letteratura fino al 60% delle crisi convulsive neonatali riconosce come causa sottostante l'EII. Altre possibili cause sono stroke (10%) e emorragia cerebrale (10%)⁴⁴. In epoca precedente all'introduzione dell'ipotermia terapeutica, più della metà dei paziente con diagnosi di EII presentava crisi convulsive isolate e spesso il quadro clinico evolveva verso uno stato di male epilettico e aumento della durata delle crisi. Grazie all'utilizzo dell'ipotermia attiva come strategia terapeutica (nonostante non risulti significativa la differenza in termini di incidenza di crisi tra i paziente trattati e non trattati) nei pazienti ipotermici è diminuito il *seizure burden*, inteso sia come durata della singola crisi che in termini di frequenza delle crisi⁴⁵.

La Società Italiana di Neonatologia per la valutazione dell'EII utilizza lo score di Sarnat semplificato: la prevalenza dei segni di uno stadio determina lo stadio di gravità di encefalopatia. Se i segni sono equamente distribuiti nei diversi stati, il grado di encefalopatia è stabilito valutando il livello di coscienza.

Allegato 1: Esame obiettivo neurologico

(Shalak LF et al, *Paediatrics* 2003; 111:351-357; Shankaran S et al, *N Engl J Med* 2005;353:1574-84)
 (da effettuarsi tra 30 e 60 minuti di vita, tra 6 e 24 ore, in 3° e 7° giornata)

- | | |
|---|--------------------------|
| 1. Livello di coscienza | |
| - <u>Iperallerta</u> (neonati in piena veglia con difficoltà a dormire, occhi spalancati, sembrano "fissare" e presentano ridotto ammiccamento) | <input type="checkbox"/> |
| - <u>Letargia</u> (la risposta agli stimoli è completa ma ritardata, con una soglia aumentata; c'è una riduzione dei movimenti spontanei) | <input type="checkbox"/> |
| - <u>Stupore/coma</u> (c'è risposta solo a stimoli energici e il tipo di risposta consiste in una retrazione delle estremità o nell'assunzione di una postura decerebrata; assenza di riflessi corneali; spesso c'è necessità di assistenza respiratoria) | <input type="checkbox"/> |
| 2. Motilità | |
| Normale/aumentata/tremori | <input type="checkbox"/> |
| Ridotta | <input type="checkbox"/> |
| Assente | <input type="checkbox"/> |
| 3. Postura | |
| Normale | <input type="checkbox"/> |
| Flessione distale/completa estensione (atteggiamento delle braccia con flessione ai polsi e estensione ai gomiti, in genere accentuata da stimolazione) | <input type="checkbox"/> |
| Decerebrata (atteggiamento rigido con flessione ai polsi, estensione ed intrarotazione delle braccia, estensione delle gambe e flessione forzata plantare dei piedi, opistotono) | <input type="checkbox"/> |
| 4. Tono assiale (valutato alla manovra di trazione e/o in sospensione ventrale) | |
| Normale | <input type="checkbox"/> |
| Ipotonia (Fig. 1 a,b) | <input type="checkbox"/> |
| Flaccidità | <input type="checkbox"/> |
| 5. Riflessi primitivi (riflesso di Moro e/o riflesso di suzione) | |
| Normale/esagerato | <input type="checkbox"/> |
| Deboli /incompleti (Fig. 2 a,b) | <input type="checkbox"/> |
| Assenti | <input type="checkbox"/> |
| 6. Disfunzione autonoma delle pupille | |
| Assente | <input type="checkbox"/> |
| Miosi | <input type="checkbox"/> |
| Midriasi, deviazione o reattività assente | <input type="checkbox"/> |
- EII lieve:** iperallerta, tono, motilità e postura normali, tremori, riflesso di Moro esagerato, non disfunzione del sistema nervoso autonomo
- EII moderata:** letargia, motilità ridotta, flessione distale/completa estensione, ipotonia, riflessi primitivi deboli/incompleti, miosi, bradicardia
- EII severa:** stupore o coma, postura decerebrata, motilità assente, flaccidità, riflessi assenti, pupille midriatiche/deviate/non reattive, apnea

La prevalenza dei segni determina il grado di encefalopatia; se i segni neurologici sono equamente distribuiti fra i vari stadi, il grado di EII si definisce sulla base del livello di coscienza.

Figura 5. Sarnat semplificato (Ancora, 2012).

1.8 Imaging cerebrale

Per valutare l'entità del danno cerebrale conseguente all'insulto ipossico ischemico esistono diverse tecniche di imaging:

- Ecografia cerebrale transfontanella (EFT): questa tecnica consente di avere informazioni sul timing del danno cerebrale, può essere eseguita in tempi rapidi a letto del paziente e permette di valutare nel tempo l'evoluzione delle lesioni⁴⁶. Inoltre attraverso l'EFT è possibile valutare precoci aumenti di ecogenicità a livello talamico o a livello della sostanza bianca che possono essere indicativi di encefalopatia ad esordio in epoca pre-natale⁴⁷. Questa tecnica consente di riconoscere facilmente i danni alla sostanza grigia profonda caratterizzati da iperecogenicità talamica bilaterale (aspetto "a due colonne"), monolaterale o focale. Nelle forme più gravi risulta iperecogeno anche il putamen (aspetto "a

quattro colonne”). Un'altra lesione facilmente riconoscibile con ecografia cerebrale è il danno sottocorticale caratterizzato dalla comparsa di edema citotossico e riconoscibile da iperecogenicità periventricolare e sottocorticale. L'utilizzo dell'ETF è stato proposto come tecnica di screening nei pazienti ricoverati in Terapia Intensiva Neonatale con diagnosi di encefalopatia neonatale in quanto consente di evidenziare l'eventuale presenza di edema cerebrale, alterazioni delle dimensioni dei ventricoli e segni di emorragie intracraniche⁴⁸. L'esame andrebbe ripetuto dopo 48 ore, o prima in caso di sospetto di complicanze (emorragie, evoluzione cistica, sviluppo di atrofia cerebrale con ventricoli e spazi subaracnoidei allargati). Ha valore prognostico limitato in quanto ha bassa sensibilità nel riconoscimento delle lesioni corticali, cerebellari e del tronco encefalico, in quanto piccole e troppo periferiche, ed è una tecnica operatore-dipendente.

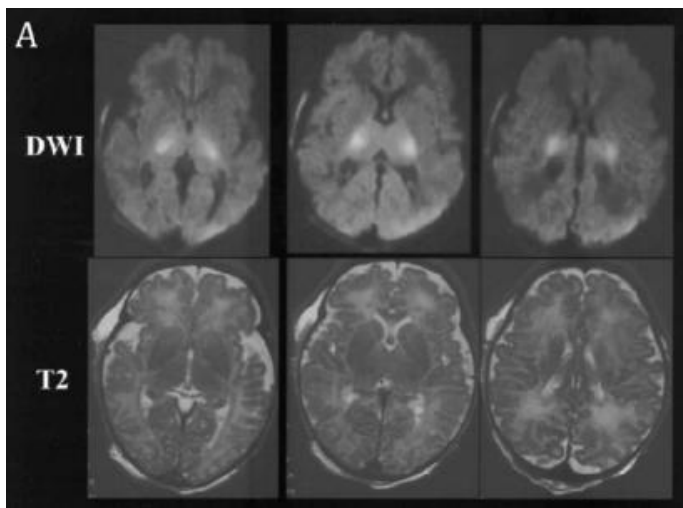
- Tomografia computerizzata (TC): consente di identificare precocemente l'eventuale presenza di edema o emorragia cerebrale. Tuttavia non si ricorre all'utilizzo della TC come esame di routine a causa dell'elevata esposizione alle radiazioni. Facendo un confronto di sensibilità, TC e RM sono tecniche equivalenti in terza giornata nell'identificazione di lesioni della sostanza grigia, non lo sono invece per quanto riguarda le lesioni corticali e della sostanza bianca⁴⁹. Tuttavia la TC può essere utile in alcune situazioni di emergenza per il fatto che l'esecuzione richiede molto meno tempo rispetto alla RM⁵⁰.
- Risonanza magnetica cerebrale (RM cerebrale): è considerata la tecnica di imaging di prima scelta per l'identificazione e valutazione della severità ed estensione del danno cerebrale nelle prime tre settimane di vita. L'esecuzione di tale esame dovrebbe avvenire tra 5 e 7 giorni dopo l'evento acuto ipossico ischemico, ad eccezione di un accertato evento asfittico in età pre-natale⁵¹. In particolare ad oggi l' American Academy of Neurology Practice Parameter suggerisce l'esecuzione di RM cerebrale tra il secondo e l'ottavo giorno di vita nei pazienti con diagnosi di EII nati a termine, con uno scopo sia di conferma diagnostica sia come primo esame prognostico circa il neurosviluppo del neonato⁵². Altre indicazioni da parte della Task Force su Encefalopatia

neonatale dell'American College of Obstetricians and Gynecologist raccomandano invece l'esecuzione di un primo esame precoce tra 24 e 96 ore di vita e successivamente un secondo esame di controllo a 10 giorni per una valutazione più precisa e definitiva delle lesioni cerebrali⁵³. Esistono tecniche di RM con immagini in diffusione (DWI) in grado di identificare più precocemente le lesioni. Se associata a sequenza DWI, l'RM va anticipata a 4-7 giorni di vita. Può inoltre essere utilizzata l'Angio-RMN venosa e arteriosa per lo studio dei vasi intracranici che consente di evidenziare eventuali lesioni associate come ictus ischemico, trombosi dei seni venosi e emorragie subdurali. Il ricorso alla RM cerebrale come esame di routine ha permesso di evidenziare come lesioni di riscontro comune, come piccole emorragie subdurali, nei pazienti con EII lieve possono concorrere alla comparsa di crisi convulsive⁵⁴. L'importanza di eseguire correttamente l'indagine di neuroimaging attraverso RM cerebrale è dovuta al suo valore di uno dei principali fattori prognostici per outcome a breve e lungo termine nei neonati con diagnosi di asfissia⁵⁵. È stato dimostrato che il riscontro di aree di iperintensità della sostanza bianca in sequenze di RM pesate T2 in neonati con EII è correlata a movimenti spontanei atipici all'esame obiettivo neurologico di Hammersmith.

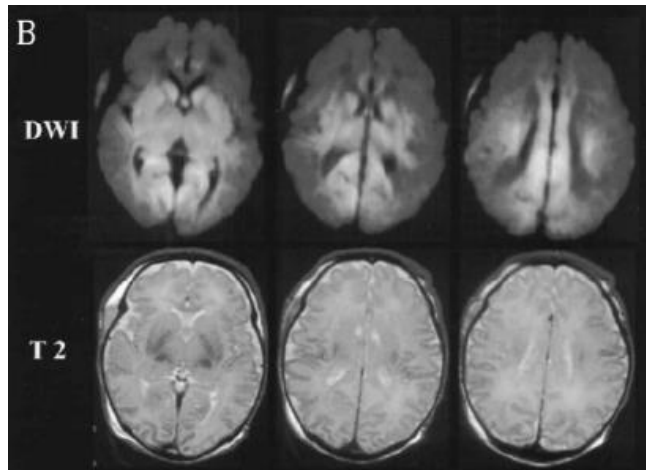
1.9 Sedi di danno cerebrale

Oltre a sottolineare quali siano i meccanismi fisiopatologici che determinano la morte neuronale nel contesto dell'EII, per inquadrare la patologia è necessario evidenziare i principali territori di danneggiati attraverso studi di RMN cerebrale. Il grado di severità e la distribuzione delle lesioni cerebrali dipendono dal grado di ipossia, dalla durata dell'evento ipossico, dall'età del neonato e dal grado di ischemia cerebrale secondaria all'ipoperfusione sistemica. È stato osservato, in caso di ipoperfusione cerebrale moderata, un prevalente interessamento delle aree di confine nei limiti delle aree di vascolarizzazione delle grandi arterie cerebrali: corteccia parasaggittale, corno dorsale dell'ippocampo e corteccia cerebellare quando il danno consegue a severa ipotensione. In particolare, nei neonati a termine si evidenzia più frequentemente un danno a livello della corteccia parasaggittale bilaterale e della sostanza bianca sottocorticale, mentre

nei neonati pre-termine è principalmente coinvolto il centro semiovale e la sostanza bianca periventricolare. Nel caso invece dell'esposizione a insulti ipossici ripetuti, i territori principalmente danneggiati sono i nuclei del tronco cerebrale, i talami e i gangli della base (specie putamen e caudato)⁵⁶, mentre il tronco encefalico è inizialmente risparmiato e coinvolto solo nelle forme più gravi. In genere le lesioni nei prematuri sono più gravi e in danno è più diffuso rispetto al neonato a termine e possono associarsi a sanguinamento intraventricolare e danno cerebellare⁵⁷. Questa selettività di danno neuronale è dovuta alla diversa vulnerabilità dei diversi tipi cellulari all'evento ipossico ischemico.



*Figura 6. Immagini DWI e pesata T2 a 24 ore di neonato con EII. Le immagini DWI mostrano iperintensità a livello del talamo bilateralmente e a livello dei bracci posteriori della capsula interna, non evidenziati nelle immagini pesate T2 (Modified from Takeoka M. et al, *Pediatr Neurol* 2002;26:274-281).*



*Figura 7. Immagini DWI e pesate T2 ripetute a 3 giorni. Le immagini DWI mostrano iperintensità diffusa a livello dei gangli della base e talamo bilateralmente e a livello della capsula interna. L'enhancement coerente con lesioni corticali è osservato in più aree, più evidente a livello dei lobi temporali e occipitali mediali bilateralmente. (Modified from Takeoka M. et al, *Pediatr Neurol* 2002;26:274-281.).*

Per quanto riguarda il risvolto clinico, le lesioni a livello della corteccia e dei gangli della base si associano a disabilità principalmente motoria, mentre lesioni a carico dei colli nuclei della base o delle regioni di confine o parasaggittali, possono invece essere associate a uno sviluppo cognitivo nella norma con lieve alterazione dello sviluppo motorio⁵⁶.

1.10 Neurofisiologia

Per quanto riguarda lo studio della neurofisiologia, l'elettroencefalografia convenzionale con videoregistrazione sincronizzata (vEEG) è riconosciuta come la migliore tecnica per la valutazione dell'attività elettrica cerebrale nei neonati con patologie neurologiche o ad alto rischio di svilupparle poiché consente una rapida diagnosi e monitoraggio di eventuali crisi epilettiche avendo quindi un importante ruolo diagnostico e prognostico. Tuttavia tale metodica non è sempre disponibile in situazioni di emergenza-urgenza in quanto il monitoraggio e la valutazione continua del vEEG richiedono un livello di competenza specifico.

Per questo motivo nella pratica clinica le due tecniche principalmente utilizzate sono l'elettroencefalogramma (EEG) e l'amplitude EEG. Queste indagini sono finalizzate a riconoscere pazienti asfittici con attività elettrica cerebrale alterata candidabili al

trattamento con ipotermia attiva e identificare l'eventuale comparsa di episodi critici. Dai dati presenti in letteratura infatti emerge che una sola valutazione clinica della comparsa di crisi convulsive tende a sottostimare l'incidenza delle crisi stesse: in diversi studi condotti su neonati a termine gestiti con monitoraggio continuo con EEG a 12 canali è stato evidenziato come solo il 9% delle crisi elettriche rilevate fosse associato a una manifestazione convulsiva clinicamente osservabile⁵⁸. Infatti, trattandosi nei neonati principalmente di crisi focali, difficilmente si propagano a sufficienza per poter essere riconosciute clinicamente. Per di più spesso i farmaci utilizzati possono essere causa di dissociazione elettro-clinica bloccando l'espressione clinica della crisi nonostante la persistente attività elettrica critica⁵⁹. L'importanza della rilevazione delle crisi è data dal fatto che esse possono aggravare l'iniziale danno ipossico ischemico^{6,60}, quindi un precoce riconoscimento dell'evento critico consente un trattamento corretto ed efficace. Inoltre è stato osservato che il burden elettrografico delle crisi è associato alla gravità delle lesioni riscontrate all'RM in neonati con EII⁶¹. L'EEG rappresenta l'indagine *gold standard* per l'identificazione precoce della comparsa di episodi critici⁵⁵.

L'amplitude EEG (aEEG), detto anche CFM, ovvero Cerebral Function Monitor, è un sistema di monitoraggio dell'attività cerebrale che rappresenta una valida alternativa in caso non vi sia a disposizione un monitoraggio continuo con EEG completo o vEEG. Il segnale è registrato da un canale con due elettrodi parietali simmetrici in posizione P3-P4 o da due canali con quattro elettrodi fronto-parietali simmetrici in posizione F3-P3 F4-P4 secondo il sistema internazionale 10-20. Il sistema di aEEG consente di visualizzare, attraverso una banda che scorre lungo uno schermo, la variazione massima e minima di un tracciato elettroencefalografico: la larghezza della banda rappresenta la variabilità complessiva dell'ampiezza dell'EEG, espressa in forma lineare tra 0 e 10 uV è in forma logaritmica tra 10 e 100 uV. Tale modalità valorizza l'attività a basso voltaggio e ridimensiona quella ad alto voltaggio. L'interpretazione del tracciato è basata su una classificazione integrata proposta da Hellstrom-Westas che considera il voltaggio e il pattern e si focalizza sulle caratteristiche del tracciato di fondo, del ciclo sonno-veglia e delle eventuali crisi⁶². Le alterazioni del tracciato

riflettono il grado di severità delle lesioni cerebrali e sono un utile strumento per la valutazione prognostica a lungo termine in neonati con EII^{63,64}.

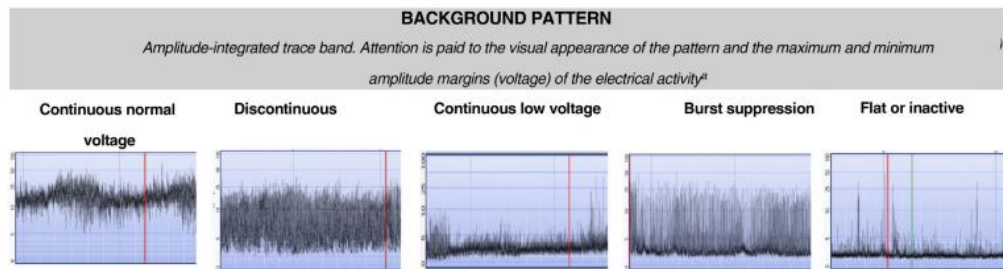


Figura 8. Classificazione del pattern di fondo in aEEG.

Tracciato normovoltato continuo: attività continua con ampiezza minima > 5 uV e massima tra 10-15 uV.

Tracciato discontinuo: attività discontinua con ampiezza minima variabile ma < 5 uV e massima > 10 uV.

Tracciato ipovoltato: pattern di fondo continuo con voltaggio molto ridotto con ampiezza minima < 5 uV e massima < 10 uV.

Burst suppression: attività di fondo discontinua con larghezza della banda senza variazioni tra 0 e 2 uV e burst con ampiezza > 25 uV.

Tracciato piatto o inattivo: tracciato isoelettrico con pattern di fondo < 5 uV.

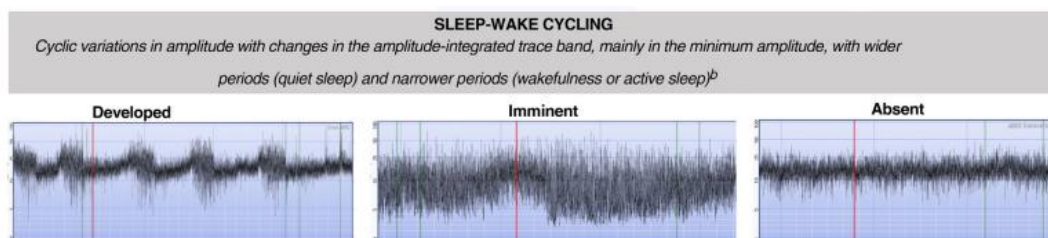


Figura 9. Classificazione del ciclo sonno-veglia in aEEG.

Sviluppato: variazioni sinusoidali chiaramente identificabili tra attività di fondo discontinua e più continua in aEEG con una durata del ciclo di almeno 20 minuti.

Imminente/immaturo: alcune variazioni cicliche al bordo inferiore, ma non

completamente sviluppate.

Assente: nessuna variazione ciclica nel pattern di fondo.

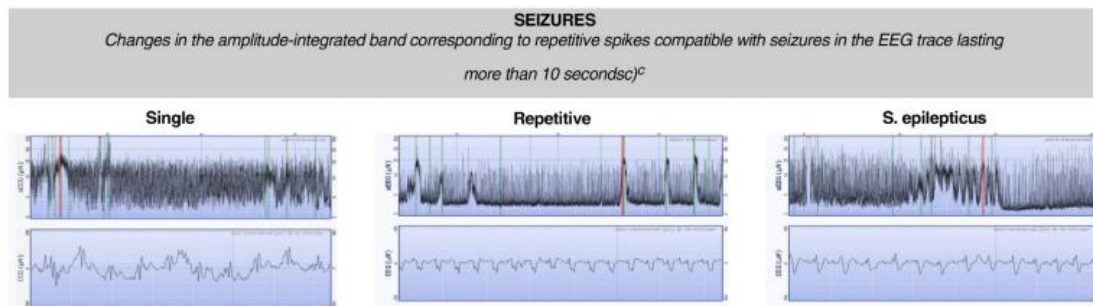


Figura 10. Classificazione delle crisi in aEEG.

Singola: massimo una crisi all'ora.

Ripetute: 2 o più crisi all'ora.

Stato epilettico: ripetute crisi continuamente in corso o singola crisi della durata di almeno 30 minuti.

L'introduzione dell'aEEG nella pratica clinica ha segnato una svolta nella diagnosi e nella gestione delle crisi epilettiche, perché può essere eseguito nell'arco di 24 ore e rilevare quindi in tempo reale eventuali cambiamenti dell'attività elettrica cerebrale e controllare l'efficacia del trattamento antiepilettico⁴⁵. I limiti di questa tecnica sono la ridotta sensibilità nel riconoscimento di pattern critici in confronto all'EEG convenzionale e la lettura del tracciato operatore-dipendente. Inizialmente l'aEEG è stato introdotto nella pratica clinica per il monitoraggio dell'adulto in coma, progressivamente il suo utilizzo si è diffuso anche nei reparti di terapia Intensiva Neonatale. In letteratura è stato studiato il ruolo dell'aEEG come strumento prognostico: la persistenza di anomalie al tracciato aEEG oltre le 48 ore di vita in associazione di assente ritmo sonno-veglia sembra essere predittivo per outcome sfavorevole in termini di neurosviluppo in pazienti con diagnosi di EII^{65,66}.

1.11 Management del neonato asfittico

Grazie all'introduzione dell'ipotermia terapeutica come *standard of care* dei neonati con EII di grado moderato-severo, risulta sempre più importante l'identificazione

precoce dei pazienti candidabili a tale trattamento. Per prima cosa è necessario porre diagnosi di encefalopatia neonatale e riconoscerne una causa ipossico ischemica. Tra le cause di encefalopatia neonatale l'origine ipossico ischemica sottende circa il 60% dei casi⁵⁸, tuttavia entra in diagnosi differenziale con altre cause di encefalopatia neonatale tra cui stroke ischemico, emorragia cerebrale, meningiti, esordio precoce di epilessia neonatale o malattie metaboliche, malformazioni cerebrali, diselettrolitemia, ipoglicemia, abuso materno di farmaci o droghe⁵⁸. Alcuni dati clinici e di laboratorio sono suggestivi di causa ipossico ischemica di encefalopatia neonatale e possono indirizzare la diagnosi:

- Esposizione ad eventi sentinella: distacco di placenta, prolasso del funicolo, rottura uterina;
- Alterata frequenza cardiaca fetale peripartum;
- Acidosi metabolica (da EGA funicolare arterioso o EGA entro un'ora dalla nascita evitando se possibile EGA capillari) e/o indice di Apgrar <5 al 10' di vita;
- Esordio tipicamente precoce entro le 24 ore;
- Possibile contemporanea presenza di danno d'organo sistemico.

Il caso di sospetta asfissia perinatale il paziente è preso in carico già in sala parto attenendosi alle Linee Guida di Rianimazione Neonatale, poiché quanto prima viene avviata l'ipotermia attiva, quanto maggiore sarà l'azione neuroprotettiva e migliore l'outcome neurologico⁶⁷. Le prime strategie di neuroprotezione che andrebbero messe in atto già al momento del ricovero di un paziente con segni clinici e biochimici di asfissia perinatale, comprendono⁶:

- Gestione della ventilazione: mantenere costanti i livelli di pCO₂ e pO₂ scongiurando gli effetti di iper e ipocapnia e iper e ipossia. L'ipercapnia causa vasodilatazione che condurrebbe ad un peggioramento della condizione di acidosi e allo *steal phenomenon*: iperafflusso in aree cerebrali non danneggiate e ipoafflusso in aree ischemiche. L'ipocapnia causa invece vasocostrizione. L'iperossia porterebbe ad un peggioramento del danno cellulare causato dalla formazione di radicali liberi ed a una riduzione della

perfusione cerebrale. Le linee guida ILCOR 2020⁶⁸ suggeriscono di iniziare la rianimazione in aria e modificare la FiO₂ sulla base della saturimetria transcutanea⁶⁹.

- Gestione della temperatura: disattivare la culla termica ed altre possibili fonti di calore in modo da intervenire il prima possibile con l'ipotermia passiva, cercando di mantenere una temperatura di circa 35°C misurata attraverso una sonda rettale almeno ogni 15 minuti. È importante in ogni caso evitare l'ipertermia.
- Monitoraggio della frequenza cardiaca: è atteso un calo della FC nel neonato asfittico e l'ipotermia la riduce ulteriormente di 14 bpm per ogni grado abbassato di temperatura corporea: aumentare di 0,5-1°C la temperatura se la FC scende sotto 80 bpm.
- Gestione emodinamica: sostenere la circolazione in caso di ipotensione sistemica per garantire una sufficiente perfusione cerebrale.
- Gestione dell'equilibrio metabolico: in particolare mantenere nel range la calcemia per garantire una stabile funzionalità cardiaca e evitare la comparsa di convulsioni; evitare alterazioni della glicemia (sia ipo che iperglicemia) in quanto associati a peggioramento del danno cerebrale.
- Gestione della somministrazione di liquidi: evitare l'eccesso di liquidi che può essere riconducibile ad alterazione della funzionalità renale con conseguente oligo-anuria o secondario a sindrome da inappropriata secrezione di ADH (SIADH). Il sovraccarico di liquidi potrebbe aggravare o causare la formazione di edema cerebrale, tuttavia non è noto l'effetto di un'eventuale restrizione di fluidi su outcome a lungo termine.
- Gestione del danno multiorgano: valutare e tenere sotto controllo gli indici di funzionalità di organi generalmente più vulnerabili e colpiti da un evento asfittico come i reni, sistema cardiovascolare, gastrointestinale ed ematopoietico.
- Gestione delle crisi convulsive: monitoraggio dell'attività elettrica cerebrale tramite aEEG e eventuale trattamento farmacologico delle crisi convulsive. Se

possibile andrebbe evitata la terapia sedativa in quanto potrebbe alterare la lettura dei tracciati aEEG e EEG.

2. IPOTERMIA TERAPEUTICA

L'ipotermia terapeutica, introdotta nella pratica clinica nel 2009, rappresenta al giorno d'oggi lo *standard of care* per evitare l'evoluzione del danno cerebrale conseguente ad un insulto ipossico-ischemico e quindi per ridurre gli outcomes sfavorevoli associati all'EII. Esistono due metodi di ipotermia terapeutica: il raffreddamento selettivo del capo e il raffreddamento total body⁷⁰. Secondo alcune metanalisi, l'ipotermia total body risulta maggiormente efficace per via dell'effetto sistemico di raffreddamento che coinvolge quasi tutte le aree cerebrali, mentre l'ipotermia selettiva del capo raggiunge solo le regioni corticali⁷¹ e limita l'accesso per gli elettrodi dell'aEEG. I dati in letteratura dimostrano l'azione neuroprotettiva dell'ipotermia terapeutica in termini di riduzione del 25% della mortalità e della disabilità neurologica maggiore a 18 mesi⁷² in pazienti con meno di sei ore di vita e con diagnosi di EII di grado moderato-severo. Nello specifico è stata dimostrata una riduzione del 32% in pazienti con EII moderata e 18% con EII severa. La terapia deve essere avviata entro le 6 ore dalla nascita con target di 33,5°C (monitorato con sonda rettale) e proseguita per 72 ore, salvo complicanze, per poi procedere con un graduale riscaldamento. Temperature inferiori a 32°C sono meno neuroprotettive e inferiori a 30°C sono pericolose. Terminate le 72 ore, alla conclusione del trattamento, la successiva fase di riscaldamento del paziente deve essere graduale, in particolare con rialzo della temperatura corporea di 0,5°C/h fino al raggiungimento di 36,5°C per evitare complicazioni causate da un rapido riscaldamento^{60,73}. Ad esempio fluttuazioni del flusso cerebrale sono associate a emorragia cerebrale in seguito a un rapido riscaldamento, la spettroscopia infrarossa è un metodo efficace per valutare le variazioni di perfusione cerebrale in neonati con EII sottoposti a ipotermia terapeutica⁷⁴. Lo stesso graduale incremento deve essere rispettato in caso di interruzione precoce del trattamento, prima delle 72 ore. Durante la fase di riscaldamento è stata osservata sia ricorrenza di crisi convulsive sia nuova insorgenza delle stesse. Inoltre l'utilizzo di due diversi dispositivi per l'ipotermia e per

il riscaldamento, rappresenta un ulteriore onere per il sistema sanitario e per le famiglie dei neonati. Per questo motivo un recente studio ha progettato e sviluppato un unico dispositivo dotato di due serbatoi di acqua per il riscaldamento e raffreddamento funzionanti in modo automatico per raggiungere la temperatura impostata e mantenerla costante grazie ai valori rilevati in tempo reale dalla sonda rettale e da sensori nel materasso. Il prototipo ha dimostrato un'elevata precisione nella rilevazione e mantenimento della temperatura e sembra essere promettente anche in termini di costo-efficacia. Diversi studi hanno osservato limitati effetti collaterali del trattamento con ipotermia attiva definendone quindi il profilo di sicurezza oltre che di efficacia⁷⁵ (NICHD trial, 2015). Questo tipo di trattamento richiede elevati livelli di supporto assistenziale specialistico che possono essere garantiti solo in centri di terzo livello.

2.1 Meccanismo d'azione

Prima dell'introduzione dell'ipotermia terapeutica come trattamento per l'uomo, sono stati condotti diversi studi su modelli animali al fine di validare il profilo di efficacia e di sicurezza e comprendere il meccanismo d'azione. In particolare è stato indagato come l'ipotermia abbia effetto nel limitare i danni cerebrali agendo durante la fase latente, lo spazio temporale tra fase primaria e secondaria del danno cellulare conseguente all'evento ipossico ischemico, approfittando di una fase in cui il danno è ancora reversibile⁶⁸. Il meccanismo alla base dell'effetto neuroprotettivo dell'ipotermia terapeutica consiste nella modulazione di alcuni meccanismi di danno irreversibili come l'inibizione della cascata infiammatoria, la riduzione della produzione di radicali liberi di ossigeno, soppressione del rilascio di mediatori eccitatori come il glutammato, riduzione del metabolismo cellulare con conseguente riduzione del consumo di ossigeno e produzione di anidride carbonica⁷⁶. In particolare la riduzione del metabolismo cerebrale e della domanda metabolica cellulare è di circa 5% per ogni grado di temperatura abbassato: questo permette di ritardare i processi di depolarizzazione cellulare in seguito al danno anossico⁷⁷. Un altro meccanismo neuroprotettivo evidenziato è la riduzione della concentrazione extracellulare di aminoacidi eccitatori e di prodotti di ossidazione a livello cerebrale⁷⁸, imputabili della depolarizzazione cellulare e del danno mitocondriale e cellulare attraverso l'attivazione delle vie intracellulari di apoptosi⁷⁹. Sembra che la soppressione del

rilascio di amminoacidi eccitatori sia alla base dell'effetto positivo dell'ipotermia nel ridurre il burden critico⁸⁰. In aggiunta, altri studi hanno evidenziato l'azione dell'ipotermia terapeutica nella stabilizzazione della barriera ematoencefalica con l'effetto di riduzione dell'edema cerebrale citotossico⁷⁷. Parte dell'effetto neuroprotettivo dell'ipotermia è inoltre dovuto al blocco della cascata infiammatoria responsabile del danno cerebrale nella fase di riperfusione⁸¹. In uno studio su modelli animali è stata dimostrata la soppressione del Citocromo C nei mitocondri e della caspasi 3 nella corteccia, talamo e ippocampo in seguito a 72 ore di ipotermia terapeutica⁸⁰. In conclusione gli studi su modelli animali hanno consentito di evidenziare il beneficio del trattamento ipotermico attraverso la riduzione della temperatura a 33-34° entro 6 ore dall'evento acuto ipossico ischemico e la prosecuzione del trattamento fino a 12-72 ore⁷⁸. Negli anni sono stati inoltre condotti diversi trial clinici randomizzati che hanno dimostrato il profilo di sicurezza e di efficacia statisticamente significativa dell'ipotermia terapeutica nella riduzione della mortalità e disabilità neurologica maggiore valutata con la scala di Bayley a 18 mesi in particolare in pazienti con diagnosi di EII di grado moderato-severo. Uno studio multicentrico del NICHD (National Institute of Child Health and Human Development) ha osservato che pazienti in cui persistono segni di EII severa e una valutazione neurologica alterata alla dimissione dopo le 72 ore di ipotermia terapeutica hanno un rischio elevato di mortalità e morbidità a 18 mesi di vita⁸.

2.2 Criteri di inclusione per il trattamento con ipotermia attiva

Attualmente le Raccomandazioni della Società Italiana di Neonatologia del 2012 per il trattamento ipotermico prevedono precisi criteri di inclusione riportati nella tabella:

| |
|--|
| <p>Neonati di età gestazionale \geq 35 settimane</p> <p>Peso neonatale > 1800 gr</p> <p>Età meno di 6 ore di vita</p> |
| <p>Devono essere presenti entrambi i criteri A e B:</p> |
| <p>A: Ipossia intrapartum definita da almeno uno dei seguenti criteri:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Punteggio di Apgar \leq5 a 10 minuti di vita; - Necessità di proseguire la rianimazione con tubo endotracheale o maschera e pallone a 10 minuti di vita; - Acidosi fetale o neonatale definita come pH \leq 7 OPPURE BE \geq -12 mmol/l. Il gold standard è rappresentato dal sangue dell'arteria ombelicale. Nel caso di più di un EGA nei primi 60 min di vita, considerare quella con i valori più patologici. |
| <p>B: Encefalopatia ipossico-ischemica moderata o severa valutata tra 30 e 60 minuti di vita secondo lo schema di valutazione neurologica Sarnat & Sarnat o alterazioni del tracciato CFM da monitoraggio di 30 minuti.</p> |

I pazienti nati pretermine o con peso inferiore a 1800 g vengono esclusi a causa della mancanza di evidenze a sostegno dell'efficacia e della sicurezza dell'ipotermia in questa popolazione⁷⁶.

I criteri di esclusione al trattamento ipotermico sono:

- Significativa diatesi emorragica,
- Malformazioni congenite maggiori (cardiopatía congenita complessa cianotizzante) o cromosomopatie associate a prognosi sfavorevole trisomia 13 o 18),
- Infezioni virali o batteriche congenite sistemiche sintomatiche (microcefalia, meningite),

- Grave emorragia intracranica,
- Severa IUGR.

Il criterio di esclusione superate le 6 ore di vita non è assoluto, è stata infatti studiata la possibilità di intraprendere il trattamento con ipotermia anche dopo le 6 ore di vita garantendo ugualmente un profilo di sicurezza. Da un confronto tra una popolazione di neonati con EII non sottoposti a ipotermia e una popolazione di neonati in cui l'avvio della terapia era avvenuto tra 6 e 24 ore di vita è emerso che il trattamento garantisce comunque un potenziale beneficio. Tuttavia i dati a disposizione non consentono di raccomandare l'inizio dell'ipotermia dopo le 6 ore di vita⁷⁶. La diagnosi di EII si basa quindi sia su una valutazione clinica attraverso i criteri Sarnat e Sarnat sia su una valutazione neurofisiologica tramite aEEG o EEG standard. Il monitoraggio dell'attività elettrica cerebrale per evidenziare eventuali pattern alterati dovrebbe essere avviato al momento del ricovero del paziente e continuato preferibilmente per tutta la durata del trattamento, o come minimo per 24 ore dall'inizio, soprattutto in caso di rilevazione di pattern critici.

2.3 Condizioni particolari

Esistono delle condizioni particolari con diversi livelli di evidenza e forza delle raccomandazioni per quanto riguarda la gestione⁶:

1. Esame neurologico patologico con criteri di asfissia peri-partum non soddisfatti: in questo caso particolare bisogna ipotizzare inizialmente ad un errore di esecuzione dell'EGA cordonale o ad una forma prolungata di asfissia già in compenso metabolico al momento della nascita. In questi casi è opportuno basarsi su una valutazione neurofisiologica: se l'aEEG è alterato il paziente è trattato con ipotermia, se invece l'aEEG è normale si rivaluta l'esame neurologico e si prendono in considerazione altre ipotesi di cause che possono averlo alterato.
2. Esame neurologico patologico con aEEG normale: in questo caso bisogna considerare la possibile presenza di artefatti, riportati fino al 12% dei tracciati iniziali⁸², principalmente muscolari, soprattutto se il paziente è in *overcooling*⁶⁴. Nel sospetto di EII è consigliato prolungare la registrazione

aEEG oltre i 30 minuti ma in ogni caso, nella decisione di sottoporre o meno un neonato a ipotermia terapeutica, è preferibile privilegiare il criterio clinico dell'esame neurologico rispetto al dato strumentale.

3. Evento ipossico-ischemico post-natale (near-miss event, collapsed infant): in questi casi non è presente il criterio dell'asfissia peri-partum e non sono presenti in letteratura dati di trials clinici randomizzati. Considerata la natura ipossico-ischemica degli eventi⁸³ è ragionevole proporre l'ipotermia terapeutica previa raccolta del consenso informato.
4. Esame neurologico dubbio: EII lieve-moderata: questa condizione può presentarsi fino al 26% dei casi⁷⁶, soprattutto se l'esame neurologico viene eseguito precocemente. È consigliato in questi casi proseguire con una valutazione neurofisiologica per aumentare l'accuratezza prognostica e se l'aEEG risulta alterato iniziare il trattamento ipotermico. In passato i neonati con diagnosi di EII lieve non erano inclusi tra i pazienti candidabili al trattamento con ipotermia attiva in quanto considerati a rischio minimo di prognosi neurologica sfavorevole^{84,85}. Negli ultimi anni sono stati condotti diversi studi che hanno dimostrato la presenza di alterati outcome neurologici a breve e lungo termine anche in pazienti con EII lieve^{86,87}. In particolare sono state evidenziate alterazioni della sostanza bianca all'RMN, alterazioni del tracciato aEEG e della risposta infiammatoria associate a una compromissione dello sviluppo neurologico a lungo termine⁸⁸. Grazie a questi nuovi dati, l'incremento dell'esperienza clinica e i risultati positivi degli studi sull'utilizzo dell'ipotermia terapeutica, è stata osservata una tendenza crescente negli ultimi anni nell'abbassamento della soglia di gravità di EII per il trattamento ipotermico⁸⁹. In un recente studio è stata evidenziata la riduzione del danno alla sostanza bianca rilevato all'RMN cerebrale in neonati con EII lieve trattati con ipotermia terapeutica, suggerendo il ruolo neuroprotettivo di tale trattamento anche in questa popolazione di pazienti⁹⁰.

Il rapido riconoscimento del paziente candidabile a ipotermia risulta di fondamentale importanza soprattutto nei centri ospedalieri in cui non è possibile avviare tale trattamento. L'ipotermia terapeutica infatti è una metodica che richiede un

monitoraggio continuo e un livello di assistenza specialistico che può essere garantito solo in Unità di Terapia Intensiva specializzate. È essenziale quindi comprendere che il management del neonato esposto a insulto ipossico ischemico in un centro che non dispone di ipotermia terapeutica prevede l'immediata stabilizzazione emodinamica in sala parto e il trasporto nel centro di terzo livello in tempi rapidi in modo da poter eventualmente avviare il trattamento entro le 6 ore di vita. Durante il trasporto è importante evitare il riscaldamento e avviare l'ipotermia passiva. Da dati presenti in letteratura emerge come circa un terzo dei pazienti *outborn* raggiunge il centro di riferimento dopo le 6 ore di vita non potendo quindi essere candidati al trattamento ipotermico⁹¹.

Appendice 1: Algoritmo per identificare i neonati eleggibili al trattamento ipotermico

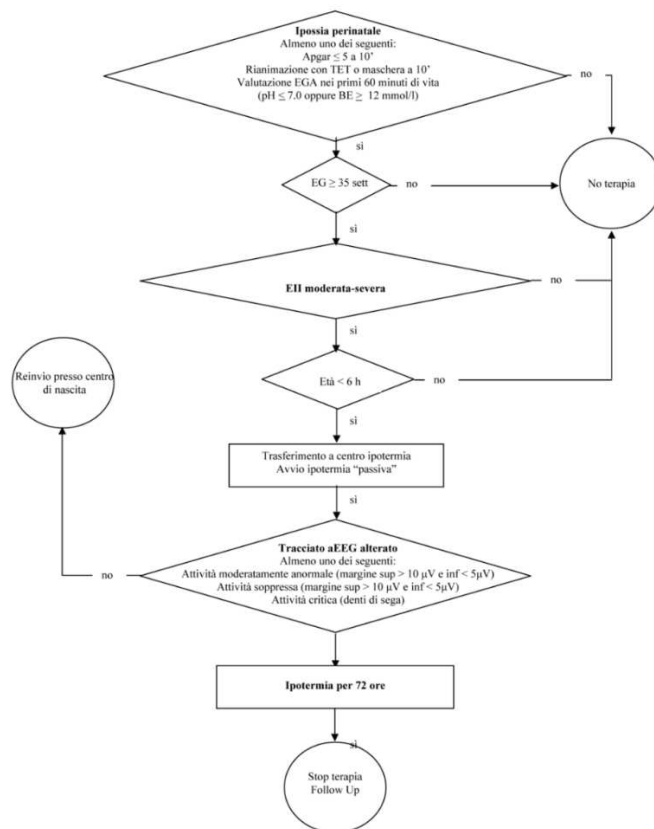


Figura 11. Algoritmo per identificare i neonati eleggibili a trattamento ipotermico (Ancora, 2012).

Nell'algoritmo della gestione del neonato con asfissia in ospedale di nascita di primo o secondo livello si evidenzia l'importanza dell'ipotermia passiva, ottenuta spegnendo la culla termica puntando come target 35°C. Tale temperatura andrebbe mantenuta anche durante il trasporto garantendo un monitoraggio possibilmente continuo o almeno ogni 15 minuti.

2.4 Monitoraggio e potenziali effetti avversi

Durante il trattamento con ipotermia attiva e fino alla conclusione del riscaldamento del paziente, è importante un attento e continuo monitoraggio clinico e di laboratorio al fine di individuare precocemente la comparsa di eventuali effetti avversi. Secondo le Raccomandazioni della Società Italiana di Neonatologia, durante tutta la durata del trattamento con ipotermia, è necessario porre attenzione a⁶:

- Parametri vitali: valutati in maniera continua, se possibile ricorrendo al monitoraggio cruento della pressione arteriosa o in alternativa ogni 2 ore o a seconda delle necessità cliniche;
- Temperatura: attraverso sonda rettale mantenuta in sede in modo da mantenere la temperatura entro il range terapeutico;
- Peso corporeo e bilancio idrico: calcolo della diuresi oraria (oliguria se diuresi < 1 ml/kg/h);
- Funzionalità cardiaca e pressione polmonare: tramite valutazione ecocardiografica e ECG quotidiano;
- Emogasanalisi: consente il controllo della funzione respiratoria, della glicemia e degli elettroliti plasmatici;
- Esami di laboratorio: emocromo, funzionalità epatica e renale, troponina, indici di flogosi, coagulazione, conta piastrinica;
- Proseguire con la registrazione aEEG fino al completamento della fase di riscaldamento.

In aggiunta durante l'ipotermia è importante assicurare al paziente⁶:

- Adeguato supporto ventilatorio qualora fosse necessario per mantenere normossia (mantenere SatO₂ >92% per ridurre il rischio di ipertensione polmonare) e normocapnia. L'ipotermia riduce il metabolismo nel neonato

asfittico quindi sarà ridotta la produzione di CO₂ con tendenza all'iperventilazione per compensare l'acidosi metabolica con il rischio di ipocapnia (il valore della pCO₂ va corretto per la temperatura⁹²). La ventilazione meccanica può essere necessaria per gestire le desaturazioni associate a convulsioni.

- Adeguato supporto cardiovascolare per evitare ipotensione sistemica.
- Adeguato apporto di liquidi per garantire un corretto bilancio elettrolitico in base alla funzionalità renale e evitando il sovraccarico di fluidi.
- Adeguato apporto calorico attraverso la nutrizione parenterale totale. Durante il trattamento il neonato può essere a digiuno o può essere avviata alimentazione trofica. Mantenere la glicemia >46 mg/dl.
- Adeguata sedoanalgesia con morfina o fentanile in infusione continua⁴⁹ per garantire il conforto del paziente.
- Adeguato monitoraggio neurofisiologico tramite a EEG in continuo o EEG durante e post ipotermia.
- Adeguata copertura antibiotica come profilassi della sepsi neonatale.
- Accesso venoso centrale per l'esecuzione di prelievi e monitoraggio cruento della pressione arteriosa, eventualmente posizionamento anche di un accesso arterioso;
- Minimizzare gli stimoli esterni (luce, rumore e manipolazioni) e variare la postura più volte al giorno per il rischio di adiponecrosi come complicanza del raffreddamento.

Dai dati presenti in letteratura e dagli studi effettuati su modelli animali emerge la possibilità di comparsa di diversi effetti avversi comparsi durante il trattamento con ipotermia attiva che possono coinvolgere differenti organi e apparati. Una metanalisi su 11 trial clinici randomizzati ha confrontato l'incidenza di tali eventi tra i pazienti trattati e pazienti non trattati⁷². I principali effetti avversi che sono stati osservati sono:

- Cardiovascolari: aritmie a volte richiedenti intervento medico o sospensione della terapia, bradicardia sinusale (bpm < 80), allungamento dell'intervallo QT, ipotensione (MAP < 40 mm Hg), necessità di supporto inotropo;

- Ematologici: anemia (emoglobina <10 g/dL, ematocrito (Hct) < 30), leucopenia (< 5 x 10⁹/L), trombocitopenia (conta piastrinica < 150 x 10⁹/L);
- Coagulativi: coagulopatia o discoagulopatie risultanti in trombosi o emorragia;
- Metabolici e elettrolitici: ipoglicemia (glicemia < 40 mg/dL), ipokaliemia (potassio < 3.5 mmol/L), lattati >2 mmol/L;
- Renali: alterata funzione renale o insufficienza renale acuta, aumento di urea e creatinina, oliguria (diuresi < 1 mL/kg/ora);
- Infettivologici: sepsi con esame microbiologico positivo su sangue e/o urina e/o liquor;
- Epatici: alterazione delle transaminasi (indici di citolisi), AST > 200 U/L ALT > 100 U/L;
- Ipertensione polmonare persistente (PPHN) può essere diagnosticata clinicamente o attraverso ecocardiogramma può richiedere o meno terapia con ossido nitrico inalatorio,
- Cutanei: ustioni cutanee e sclerodermia.
- Alterazione della farmacocinetica di alcuni farmaci: ad esempio l'ipotermia rallenta il metabolismo della morfina risultando in concentrazioni sieriche più elevate. Per questo in pazienti in trattamento con ipotermia la velocità di infusione di morfina deve essere inferiore rispetto a quella solitamente raccomandata.

Gli effetti avversi più frequenti emersi dal lavoro di metanalisi sono la bradicardia sinusale e la trombocitopenia⁶⁰. Questi effetti avversi sono maggiormente associati a temperature inferiori rispetto a quelle raccomandate nei protocolli, il che sottolinea l'importanza di uno stretto monitoraggio e un'adeguata conoscenza degli effetti avversi in modo da prevenire e evitare complicazioni legate all'eccessivo raffreddamento⁹³. È importante inoltre riconoscere che alcuni eventi avversi possono non essere direttamente conseguenza dell'ipotermia ma piuttosto alla disfunzione multiorgano che caratterizza la sindrome ipossico-ischemica. Un esempio è l'ipertensione polmonare, strettamente associata all'asfissia perinatale, d'altra parte l'ipotermia può causare emocoagulazione, iperviscosità e vasocostrizione polmonare⁹³.

2.5 Altre strategie neuroprotettive

Nonostante gli indubbi benefici apportati grazie all'utilizzo dell'ipotermia terapeutica, circa il 48% dei neonati con EII trattati sperimenta gravi complicanze neurologiche a lungo termine. Ad oggi sono in studio nuove strategie farmacologiche di neuroprotezione per prevenire la perdita neuronale conseguente all'insulto ipossico ischemico che possano coadiuvare l'ipotermia terapeutica. Come spiegato in precedenza questa tecnica è utilizzata nell'intervallo temporale tra la fase primaria e secondaria del danno cerebrale (fase latente). Le nuove possibili strategie sono finalizzate ad un'azione più selettiva durante la fase secondaria di danno cerebrale andando a limitare i processi apoptotici, i danni da radicali liberi e secondari all'accumulo di mediatori eccitatori⁹⁴. La principale tecnica in studio sono rappresentate dall'utilizzo dell'eritropoietina (EPO). Gli attuali studi in fase II sembrano incoraggianti per quanto riguarda l'efficacia, tuttavia non è ancora confermato il profilo di sicurezza⁷. L'EPO è una citochina con diversi ruoli oltre alla stimolazione dell'emopoiesi. I suoi recettori sono infatti espressi anche sulla superficie di cellule neuronali, glia e cellule endoteliali⁹⁵ in cui la citochina contribuisce alla proliferazione e differenziazione sia durante il normale sviluppo cerebrale sia in seguito ad un insulto ipossico^{96,97}. In particolare, il fattore HIF (hypoxia-induced factor), attivato in condizioni di ipossia, induce la sintesi di EPO e l'espressione dei recettori sulla superficie cellulare. L'effetto neuroprotettivo dell'eritropoietina si esplica attraverso la stimolazione di una risposta anti-apoptotica, anti-infiammatoria e anti-ossidativa, inoltre stimola la migrazione neuronale e gliale attorno alle aree danneggiate⁹⁸. Diversi studi su modelli animali hanno dimostrato l'effetto neuroprotettivo della somministrazione endovenosa di EPO in associazione al trattamento con ipotermia attiva evidenziando un miglioramento della risposta motoria e cognitiva, della crescita cerebellare, della normalizzazione del tracciato aEEG, un aumento della sopravvivenza degli oligodendrociti e una riduzione del rischio relativo e assoluto di morte e disabilità neurologica. Attualmente sono in corso due trial randomizzati placebo-controllo con l'obiettivo di determinare l'effetto della somministrazione endovenosa di EPO su l'incidenza di morte e disabilità neurologica a 24 mesi in neonati con EII moderate o severa⁹⁹.

3. PROGNOSE e FOLLOW-UP

3.1 Fattori prognostici clinici

I principali fattori prognostici clinici per i pazienti con diagnosi di EII sono l'esame obiettivo neurologico (grado di severità di EII) e la sua evoluzione nei giorni che seguono il trattamento ipotermico, la durata delle alterazioni neurologiche e la presenza di crisi epilettiche. I pazienti con diagnosi di EII moderata hanno un rischio di 20-35% di disabilità neurologiche, in caso di EII severa il rischio di morte e disabilità neurologica permanente sale a 75-80%⁴. L'incidenza di paralisi cerebrale in pazienti sottoposti a ipotermia terapeutica che superano il periodo neonatale è del 13%. La rapidità di normalizzazione del quadro neurologico è un altro fattore prognostico importante: in caso di ripristino di un quadro normale entro 7 giorni lo sviluppo neurologico sarà regolare nel 90% dei casi o sub-ottimale nel restante 10%¹⁰⁰. Per quanto riguarda la comparsa delle crisi epilettiche, questa si associa ad un rischio di disabilità neurologiche a lungo termine aumentato di 40 volte, soprattutto in caso di insorgenza precoce entro le 12 ore dalla nascita o in caso siano di difficile controllo¹⁰¹.

3.2 Fattori prognostici neurofisiologici

Pattern alterati al tracciato EEG sono importanti fattori prognostici dello sviluppo neurologico del neonato con diagnosi di EII. Quanto è più grave e duratura l'alterazione dell'attività elettrica cerebrale, quanto più sfavorevole sarà la prognosi. In particolare un basso voltaggio, tracciato isoelettrico e depressione dell'attività che si protrae oltre la seconda settimana di vita sono associati a prognosi neurologica infausta. In caso invece di depressione lieve o assente in prima giornata di vita, precoce comparsa di regolari cicli sonno-veglia e il ripristino di un'attività di fondo normale entro la prima settimana di vita correlano con prognosi migliore¹⁰². Inoltre la persistenza di anomalie al tracciato aEEG oltre le 48 ore di vita in associazione di assente ritmo sonno-veglia sembra essere predittivo per outcome sfavorevole in termini di neurosviluppo in pazienti con diagnosi di EII⁶².

3.3 Prognosi correlata a RM cerebrale

La risonanza magnetica cerebrale è l'esame di neuroimaging più importante nella definizione della prognosi di un paziente con diagnosi di EII. L'assenza di anomalie alla RM consente di escludere con ragionevole certezza lo sviluppo di eventuali deficit neurologici¹⁰³. Lesioni a livello delle zone di confine parasaggittali e della sostanza bianca di associano a deficit cognitivi mentre i problemi motori sono minimi o assenti. Lesioni a carico dei nuclei della base e talami sono invece associate a peggiore prognosi sia in termini di disabilità cognitiva che motoria. Più precisamente una lesione del braccio posteriore della capsula interna corella con esiti motori come la paralisi cerebrale. Nel caso le lesioni fossero particolarmente gravi a carico dei gangli della base, talami o in caso di coinvolgimento del tronco encefalico, nel 35% dei casi si arriva al decesso¹⁰⁴.

3.4 Follow-up

I pazienti con diagnosi di EII vengono inseriti in un programma di follow-up dello sviluppo psicomotorio, in particolare effettuando una valutazione globale che includa sia l'esame neurologico standard che la valutazione della funzione motoria, dello sviluppo cognitivo, del linguaggio, del comportamento, la somministrazione di questionari per i genitori, oltre all'esecuzione di esami strumentali¹¹⁹. Per ottenere valutazioni oggettive di outcome neurologico, si utilizzano strumenti standardizzati da somministrare in momenti definiti. La valutazione dei General Movements (GMs) è eseguita a 1 e 3 mesi di vita; l'esame obiettivo neurologico secondo Hammersmith viene eseguito nella sua versione neonatale (Hammersmith Neonatal Neurological Examination) alla dimissione e a 1 mese di vita e nella versione per lattanti (Hammersmith Infant Neurological Examination) a 3, 6 e 9 mesi di vita; la scala dello sviluppo di Bayley valuta il follow-up a distanza ed è somministrata a 12, 18 e 24 mesi d'età.

I General Movements (GMs) sono movimenti che coinvolgono l'intero corpo e precedono lo sviluppo di attività motoria volontaria. Sono presenti in epoca fetale e persistono per i primi mesi di vita¹⁰⁵ con caratteristiche differenti in base all'età.

Sono descritti tre tipologie principali di alterazioni della motricità spontanea nel neonato: movimenti di tipo Poor Repertoire caratterizzati da sequenze monotone di movimenti senza la fluidità e completezza tipiche della motricità normale; movimenti di tipo Cramped Synchronized, caratterizzati da rigidità e ipersincronizzazione nella contrazione dei muscoli del tronco e degli arti; Chaotic GMs: movimenti ampi e poco organizzati. A circa due mesi compaiono i movimenti tipo Fidgety¹⁰⁶, poco ampi e di velocità moderata in tutte le direzioni, costantemente presenti nel bambino in uno stato di veglia quieta. La presenza di movimenti tipo Fidgety è associata a buona prognosi neurologica, l'assenza invece indica cattiva prognosi neurologica e paralisi cerebrale infantile.

L'esame neurologico secondo il metodo Hammersmith consiste in una valutazione standardizzata dei nervi cranici, postura, movimenti, tono muscolare, riflessi, reazioni, funzioni grosso e finomotorie e dello stato comportamentale. La valutazione è convertita in un punteggio messo a confronto con un Optimality Score in relazione all'età¹⁰⁷.

La Bayley scale of Infant and Toddler Development è una scala di sviluppo neuropsichico del bambino. Attualmente si utilizza la III edizione. La scala di Bayley è un utile strumento standardizzato utilizzato di routine per valutare gli aspetti cognitivi, linguistici, motori, socio-emotivi e comportamentali nei bambini confrontandoli con quelli riferiti ad un campione di pari età. Ottenendo informazioni qualitative e quantitative, permette di individuare precocemente ritardi nello sviluppo per poter riuscire ad avviare un intervento adeguato¹⁰⁸. È costituita da 5 scale, 3 a somministrazione diretta al bambino e 2 rivolte ai genitori o al caregiver attraverso un questionario, coinvolgendoli direttamente al momento della valutazione.

- La scala cognitiva valuta lo sviluppo sensomotorio, esplorazione e manipolazione, memoria, formazione dei concetti e relazione tra oggetti e altri aspetti del processo cognitivo.
- La scala motoria valuta la fine-motricità (tracciamento visivo, raggiungimento e manipolazione di oggetti, presa e risposta all'informazione tattile) e la grosso-motricità (postura, movimento dinamico, equilibrio e pianificazione motoria).

- La scala del linguaggio è composta da due sottoscale: la comunicazione recettiva che valuta comportamenti preverbali, sviluppo del vocabolario e comprensione verbale; e la comunicazione espressiva che valuta comunicazione preverbale, sviluppo del vocabolario e sviluppo morfosintattico.
- La scala socioemozionale valuta la gestione delle emozioni, bisogni comunicativi e la capacità di relazionarsi, la capacità di utilizzare le emozioni in modo interattivo e finalizzato e segnali emotivi per la risoluzione di problemi.
- La scala del comportamento adattativo valuta diverse abilità funzionali quotidiane del bambino, misurando cosa effettivamente fa e ciò che è in grado di fare in alcune aree (comunicazione, autocontrollo, gioco...) ¹¹⁹.

Le scale sono indipendenti l'una dall'altra e possono anche essere utili per monitorare i progressi del bambino dopo aver iniziato un programma di intervento. I punteggi vanno adeguati all'età corretta del bambino. Per ogni scala viene assegnato un punteggio che se > 85 è rappresentativo di uno sviluppo normale, se 70-85 sviluppo borderline, se < 70 è indicativo di sviluppo alterato. Oltre ad essere un importante strumento diagnostico in grado di individuare precocemente ritardi nello sviluppo, la scala di Bayley III è anche uno strumento predittivo dello sviluppo in età scolare. Uno studio di Natarajan e collaboratori ha evidenziato una concordanza tra la valutazione del neurosviluppo ottenuta a 18-22 mesi e la valutazione a 6-7 anni, sottolineando l'importanza del follow-up per poter pianificare interventi di sostegno adeguati ¹⁰⁹.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo primario:

- Valutare l'outcome neurologico a distanza dei neonati con diagnosi di EII trattati presso la UOC Terapia Intensiva e Patologia Neonatale di Padova dal 2015 al 2022

Obiettivi secondari:

- Valutare i cambiamenti di pratica clinica nella gestione dei pazienti affetti da EII tra i periodi 2015-2017 e 2020-2022
- Valutare fattori prognostici precoci che possano correlare con l'esito neurologico a distanza

MATERIALI E METODI

Il presente studio osservazionale analitico ha analizzato in maniera retrospettiva una popolazione di neonati esposti a un evento di asfissia perinatale e con diagnosi di encefalopatia ipossico-ischemica, sottoposti al trattamento con ipotermia terapeutica presso l'Unità Operativa Complessa di Terapia Intensiva e Patologia Neonatale dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova nel periodo compreso tra il 2015 e il 2022. Sono stati inclusi nella popolazione di studio sia pazienti nati presso l'Azienda Ospedaliera di Padova (*inborn*) sia pazienti nati presso altri presidi Ospedalieri Veneto orientale (*outborn*) e afferiti presso l'U.O.C. di Terapia intensiva neonatale di Padova tramite il Servizio del Trasporto Emergente del Neonato Critico (STEN). Per selezionare i pazienti dello studio è stata considerata la definizione di asfissia perinatale della Società Italiana di Neonatologia: Indice di Apgar \leq a 5 a 10 minuti di vita o necessità di supporto ventilatorio a 10 minuti di vita o evidenza di acidosi metabolica da emogasanalisi arterioso cordonale definito da pH \leq a 7 o eccesso di basi \geq a -12 mmol/L. Sono stati inclusi nello studio solo i pazienti sottoposti a ipotermia terapeutica, avviata entro le 6 ore di vita con target di temperatura a 33,5°C.

I pazienti inclusi nello studio sono stati identificati attraverso l'analisi dei registri di ricovero del Reparto e per ognuno sono stati raccolti dati anagrafici, clinici, laboratoristici e strumentali tramite revisione della cartella clinica personale. In particolare sono stati raccolti e analizzati:

- Dati anagrafici: nome, cognome, sesso, data, ora e luogo di nascita, settimana gestazionale alla nascita, peso alla nascita e percentile corrispondente.
- Dati antenatali: gravidanza normoinsorta o insorta tramite PMA, gravidanza normodecorsa o patologica, gemellare o unica, presenza di fattori di rischio per infezione, tipo di parto vaginale o cesareo, complicanze relative al parto.
- Dati perinatali: Indice di Apgar a 1, 5 e 10 minuti, pH e EB ricavati dall'EGA arterioso cordonale eseguito entro la prima ora di vita del neonato, necessità di rianimazione (ventilazione a pressione positiva, compressioni toraciche, farmaci).
- Dati postnatali: sopravvivenza, pH e EB a un'ora di vita, Sarnat a 60', temperatura corporea e timing all'avvio dell'ipotermia, effetti avversi secondari al trattamento ipotermico, necessità di sospendere l'ipotermia prima di 72 ore, valore della glicemia all'ingresso, indicatori di danno d'organo (aumento di urea o creatinina, aumento di AST e ALT, aumento troponina I, necessità di inotropi, discoagulopatia), presenza di EOS e/o LOS, necessità di trasfusioni.
- Variabili di outcome a breve termine: mortalità, RMN cerebrale patologica e timing dell'esecuzione, esecuzione e tipologia di pattern del tracciato aEEG e EEG.
- Variabili di outcome a lungo termine: mortalità, diagnosi di paralisi cerebrale infantile (PCI), punteggio della valutazione delle scale di Bayley III cognitiva, del linguaggio e motoria a 12 e 24 mesi.

La raccolta e l'elaborazione dei dati è stata eseguita tramite la creazione di un database mediante il programma Excel di Microsoft Office 365. Per l'elaborazione dei dati è stata eseguita un'analisi statistica descrittiva definendo per ogni dato considerato il valore numerico assoluto e valore percentuale.

Per tutti i pazienti, in occasione del ricovero, è stato raccolto il consenso al trattamento dei dati personali secondo normativa UE 2016/679 per scopi di ricerca scientifica in campo medico, biomedico ed epidemiologico e per finalità didattiche.

È stata inoltre inviata notifica del progetto al Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica della Provincia di Padova.

ANALISI STATISTICA

La statistica descrittiva è espressa in valori assoluti e percentuali per quanto riguarda le variabili categoriche, in mediane con rispettivi intervalli per le variabili di tipo continuo. L'analisi statistica successiva di comparazione è stata eseguita utilizzando test non parametrici: il test di Mann-Whitney per le variabili continue e il test del Chi quadrato e il Test di Fisher per le variabili categoriche. Sono state quindi analizzate le variabili indipendenti in analisi univariata (calcolo di Odds ratio). I valori di p-value sono stati considerati statisticamente significativi per $p < 0.05$.

Per comprendere le relazioni tra la patologia, il neuroimaging, l'attività elettrica cerebrale e il neurosviluppo nei neonati che hanno avuto diagnosi di l'encefalopatia ipossico-ischemica nel periodo dello studio, è stata condotta una network analysis su diversi indicatori. L'analisi comprende un insieme di tecniche utili per rappresentare più variabili e studiare le loro relazioni. L'assunto fondamentale che guida la scelta della network analysis è che lo studio delle connessioni tra un numero plausibile di variabili fornisce migliori spiegazioni per un fenomeno complesso, come l'associazione tra variabili neurofisiologiche e neuropsicologiche durante la prima infanzia. La network analysis organizza tutte le variabili di interesse in una matrice di dati e consente di rappresentarle come nodi e le loro relazioni come connessioni. Di conseguenza, il concetto di network diventa uno strumento analitico e operativo che utilizza il linguaggio matematico e la teoria dei grafi per aiutare a definire relazioni plausibili tra le variabili neurofisiologiche e neuropsicologiche esaminate. In questa analisi esplorativa, sono state specificate le relazioni plausibili ipotizzando un'associazione tra le variabili: PRE-POST

1. EEG patologico
2. CFM patologico
3. SARNAT a 60'
4. RMN patologico
5. Bayley III cognitivo
6. Bayley III linguaggio
7. Bayley III motorio

In particolare, per analizzare congiuntamente le associazioni ponderate tra le variabili e apprezzare la complessa matrice di correlazioni attese nella raccolta dei dati, è stato utilizzato il pacchetto "bootnet" (Epskamp & Fried, 2020) per stimare un modello che tenesse conto delle differenze individuali, ossia dei pesi di ciascun bambino. In primo luogo, per interpretare i risultati di una network analysis, è importante valutare la centralità dei nodi. In altre parole, se un nodo presenta forti associazioni con altri nodi, è più centrale all'interno della rete rispetto ad altri nodi. Per ogni nodo, è stata stimata la forza e l'influenza attesa (EI) (Robinaugh, Millner, & McNally, 2016). Sono state confrontate due diverse reti stimate, ovvero l'EBICglasso standard e un EBICglasso più conservativo con una soglia e una stima non regolarizzata. Questo perché il tipico algoritmo GLASSO non sempre riesce a stimare il modello migliore e può produrre falsi positivi che, a loro volta, influiscono sulla replicabilità dei dati derivati da piccoli campioni (Borsboom, 2022).

RISULTATI

Tabella I. Caratteristiche demografiche

| | 2015-2022 108 pazienti |
|---------------------------------------|-----------------------------------|
| EG (SG, media) | 39 |
| PN (g, media) | 3210 |
| Sesso maschile (%) | 62 (57%) |
| Outborn (%) | 81 (75%) |
| Taglio cesareo (%) | 56 (52%) |
| Gemellarità (%) | 2 (2%) |
| IA a 10 minuti ≤ 5 (%) | 28 (26%) |
| pH arterioso cordonale < 7.00 (%) | 44 (41%) |
| EB arterioso cordonale ≥ -12 (%) | 72 (67%) |
| Ipoglicemia all'ingresso (%) | 23 (21%) |

Lo studio ha incluso in totale 108 pazienti, ricoverati nel periodo compreso tra il 2015 e 2022 presso la Terapia Intensiva Neonatale di Padova con diagnosi di encefalopatia ipossico-ischemica e sottoposti a ipotermia terapeutica. L'età media dei neonati inclusi nello studio era di 39 settimane di gestazione, con peso alla nascita in media di 3210 g. Il 57% (n=62) dei pazienti in studio è di sesso maschile, 52% (n=56) nati da taglio cesareo e 2% (n=2) da gravidanze gemellari. Per quanto riguarda la valutazione neonatale, il 26% (n=28) dei pazienti ha presentato IA ≤ 5 a 10 minuti, indicativo di sofferenza moderata e necessità di assistenza, mentre per quanto riguarda l'EGA arterioso cordonale, è stato registrato un 41% (n=44) dei pazienti con pH < 7.00 e 67% (n=72) con eccesso di basi ≥ -12 , valori che rientrano nella definizione di asfissia perinatale. Il 21% (n=23) dei pazienti ha presentato ipoglicemia alla nascita. Di rilievo è il dato secondo cui nel periodo considerato, tre quarti dei pazienti (75%, n=81) esposti ad asfissia perinatale fosse *outborn*, ossia nato in un ospedale *spoke* (periferico) e trasferito tramite il servizio STEN presso la Terapia Intensiva Neonatale di Padova, centro di riferimento per l'ipotermia terapeutica per i presidi Ospedalieri del Veneto Orientale.

Tabella II. Criteri per la valutazione della severità dell'encefalopatia ipossico-ischemica

| | | 2015-2022 108 pazienti |
|---|---------------------------|-----------------------------------|
| Esame neurologico secondo Sarnat a 60 minuti | Score 0 (%) | 3 (3%) |
| | Score 1 (%) | 25 (23%) |
| | Score 2 (%) | 59 (55%) |
| | Score 3 (%) | 17 (16%) |
| Amplitude integrated EEG (aEEG) per 30 minuti | Tracciato normale (%) | 49 (45%) |
| | Tracciato discontinuo (%) | 19 (18%) |
| | Tracciato ipovoltato (%) | 19 (18%) |
| | Tracciato con crisi (%) | 7 (6%) |

Per la diagnosi e la valutazione della severità di encefalopatia ipossico-ischemica, è stato eseguito l'esame neurologico secondo Sarnat e Sarnat che valuta parametri clinici come il tono muscolare, i riflessi, la funzionalità autonoma e la presenza di alterazioni all'EEG. L'esame permette di distinguere quattro classi (0-3) di gravità crescente di EII. Nel periodo dello studio sono stati ricoverati presso la TIN di Padova 3 (3%) neonati con Sarnat Score 0, 25 (23%) con Score 1 (EII lieve), 59 (55%) con Score 2 (EII moderata) e 17 (16%) con Score 3 (EII severa). Secondo le linee guida della Società Italiana di Neonatologia, sono considerati candidabili al trattamento con ipotermia terapeutica i neonati con diagnosi di EII di grado moderato-severo.

Per quanto riguarda la valutazione neurofisiologica, presso la TIN di Padova è a disposizione dal 2011 l'Amplitude integrated EEG (aEEG) che permette una valutazione continua dell'attività elettrica cerebrale. In particolare l'esame è eseguito all'ingresso in TIN per almeno 30 minuti e eventualmente mantenuto per tutta la durata del trattamento ipotermico (e successiva fase di riscaldamento) con lo scopo di individuare crisi epilettiche subcliniche e di monitorare l'efficacia della terapia antiepilettica. La valutazione del tracciato aEEG considera principalmente il voltaggio e il tipo di pattern che può essere continuo, discontinuo, ipovoltato, burst-suppression o con crisi epilettiche. Tra i pazienti inclusi nel nostro studio, 49 (45%) hanno registrato

un tracciato normale, 19 (18%) tracciato discontinuo, 19 (18%) tracciato ipovoltato e 7 (6%) hanno registrato la presenza di crisi epilettiche.

Tabella III. Ipotermia terapeutica

| | | 2015-2022 108 pazienti |
|---|--|-----------------------------------|
| TC all'ingresso in TIN | < 34 °C | 18 (17%) |
| | 34-35 °C | 8 (7%) |
| | >36 °C | 36 (33%) |
| Ore di vita all'avvio dell'ipoteremia (media) | | 4.13 |
| Complicanze trattamento ipotermico | Nessuna | 74 (69%) |
| | Ipertensione polmonare | 7 (6%) |
| | Bradycardia | 10 (9%) |
| | Complicanze ematologiche (piastrinopenia, sanguinamento, trombosi) | 7 (6%) |
| | Adiponecrosi | 4 (4%) |
| Sospensione anticipata ipoteremia terapeutica (<72 h) | | 6 (5%) |

All'ingresso in TIN 18 (17%) pazienti avevano temperatura corporea <34° C, 8 (7%) pazienti con TC compresa tra 34-35° C e 36 pazienti (33%) >36° C. La rilevazione della temperatura corporea all'ingresso è importante per il fatto che al momento del riscontro di un episodio di asfissia perinatale all'inizio del trattamento con ipoteremia attiva, è importante procedere con l'avvio dell'ipoteremia passiva, spegnendo il riscaldamento della culla ed eliminando possibili fonti di calore. Questo accorgimento risulta fondamentale soprattutto per i pazienti nati in ospedali periferici in cui la temperatura corporea dovrebbe essere mantenuta a 35° C per tutta la durata del trasporto. Secondo le linee guida della Società Italiana di Neonatologia, l'ipoteremia terapeutica deve essere avviata entro le 6 ore di vita, per rientrare nella finestra temporale della fase latente di danno neuronale in modo da avere migliori possibilità

terapeutiche. L'età media dei neonati in studio sottoposti a ipotermia era di 4,13 ore, rispettando il criterio temporale delle linee guida. Durante le 72 ore di ipotermia attiva, 74 pazienti (69%) non hanno sperimentato alcun effetto avverso correlato al trattamento ipotermico, 10 (9%) hanno sviluppato bradicardia, 7 (6%) complicanze ematologiche e 4 (4%) adiponecrosi. Per 6 (5%) pazienti gli effetti avversi sono stati di entità tale da richiedere la sospensione anticipata del trattamento.

Tabella IV. Indagini neurologiche

| | 2015-2022 108 pazienti |
|--------------------------------------|-----------------------------------|
| EEG discontinuo | 50 (46%) |
| EEG ipovoltato | 27 (25%) |
| BS/low voltage | 14 (13%) |
| EEG con crisi | 9 (8%) |
| Trattamenti antiepilettici | 49 (45%) |
| 1° linea (Fenobarbital) | 35 (32%) |
| 2° linea (Dintoina) | 5 (5%) |
| 3° linea (Midazolam) | 6 (5%) |
| 4° linea (Levetiracetam/Piridossina) | 3 (3%) |
| Timing RMN (gg, media) | 6.18 |
| RMN patologica | 39 (36%) |

Durante il ricovero in TIN sono stati svolti accertamenti neurologici. Per quanto riguarda il tracciato EEG, 50 pazienti (46%) hanno riportato un tracciato discontinuo, 27 (25%) ipovoltato, 14 (13%) burst-suppression o basso voltaggio e per 9 (8%) pazienti è stata registrata la presenza di crisi epilettiche. Per 49 (45%) pazienti è stata avviata la terapia antiepilettica: 35 (32%) con farmaci di prima linea, nel caso specifico Fenobarbital, 5 (5%) hanno richiesto il ricorso a farmaci di seconda linea, cioè Dintoina, 6 (6%) di terza linea (Midazolam) e per 3 (3%) pazienti è stato necessario utilizzare farmaci di quarta linea per il controllo delle crisi (Levetiracetam o Piridossina).

Per quanto riguarda il neuroimaging, la risonanza magnetica cerebrale è considerata l'indagine gold standard per l'identificazione e la valutazione della severità del danno cerebrale, oltre ad essere un importante fattore prognostico. L'esame andrebbe eseguito tra 5 e 7 giorni di vita. L'età media dei pazienti in studio al momento dell'esecuzione dell'RMN cerebrale era di 6,18 giorni. Le immagini della RMN hanno evidenziato anomalie risultando patologiche in 39 (36%) pazienti.

Tabella V. Follow-up dei pazienti sottoposti a trattamento ipotermico

| | |
|---|--------------------|
| Bayley III a 12 mesi | 68 pazienti |
| Cognitivo < 70 | 9 (13%) |
| Cognitivo 70-85 | 5 (7%) |
| Cognitivo > 85 | 54 (80%) |
| Linguaggio < 70 | 9 (13%) |
| Linguaggio 70-85 | 3 (4%) |
| Linguaggio > 85 | 56 (82%) |
| Motorio < 70 | 7 (10%) |
| Motorio 70-85 | 5 (7%) |
| Motorio > 85 | 56 (82%) |
| Bayley III a 24 mesi | 60 pazienti |
| Cognitivo < 70 | 8 (13%) |
| Cognitivo 70-85 | 7 (12%) |
| Cognitivo > 85 | 45 (75%) |
| Linguaggio < 70 | 8 (13%) |
| Linguaggio 70-85 | 9 (15%) |
| Linguaggio > 85 | 43 (72%) |
| Motorio < 70 | 6 (10%) |
| Motorio 70-85 | 8 (13%) |
| Motorio > 85 | 46 (77%) |
| Paralisi cerebrale infantile (PCI) | |
| No | 51 (85%) |

| | |
|----------|--------|
| Lieve | 3 (5%) |
| Moderata | 2 (3%) |
| Severa | 4 (7%) |

In seguito alla dimissione dalla TIN, i pazienti sono inseriti in un programma di follow-up per monitorare lo sviluppo e garantire un'assistenza adeguata. In riferimento alla popolazione di pazienti in studio, a 12 e 24 mesi è stata somministrata rispettivamente a 68 e 60 bambini la scala di Bayley III, strumento utile per fornire una dettagliata descrizione sullo sviluppo globale e sulle prestazioni dei pazienti. Le scale cognitiva, linguistica e motoria sono somministrate attraverso un'interazione diretta con il bambino. A 12 mesi, per quanto riguarda la scala cognitiva, 9 pazienti (13%) hanno ottenuto un punteggio <70, 5 pazienti (7%) punteggio compreso tra 70-85 mentre la maggior parte (54 pazienti, 80%) ha ottenuto uno score >85, indicativo di prestazioni considerate nella norma. Nella valutazione del linguaggio è stato assegnato un punteggio <70 a 9 bambini (13%), punteggio tra 70-85 a 3 bambini (4%) e punteggio nella norma >85 a 56 bambini (82%). Per quanto riguarda la valutazione dello sviluppo motorio, 7 pazienti (10%) hanno raggiunto uno score <70, 5 pazienti (3%) hanno ottenuto un punteggio compreso tra 70-85, mentre 56 pazienti (82%) hanno raggiunto un punteggio >85.

A 24 mesi la valutazione è stata ripetuta per 60 pazienti. Per quanto concerne la scala cognitiva, un punteggio <70 è stato ottenuto da 8 bambini (13%), score tra 70 e 85 da 7 bambini (12%) mentre 45 bambini (75%) hanno raggiunto uno score >85. Nella scala del linguaggio è stato assegnato un punteggio <70 a 8 pazienti (13%), punteggio compreso tra 70 e 80 a 9 pazienti (15%) e un punteggio >85 è stato ottenuto da 43 pazienti (75%). Nella valutazione motoria, 6 pazienti (10%) hanno raggiunto un punteggio <70, 8 pazienti (13%) punteggio tra 70 e 85 mentre 46 pazienti (77%) hanno raggiunto un punteggio >85.

La paralisi cerebrale infantile (PCI), considerata la più grave sequela riportata in pazienti sopravvissuti con diagnosi di EII¹¹⁰, è stata diagnosticata di grado lieve in 3 bambini (5%), moderato in 2 bambini (3%) e di grado severo in 4 bambini (7%).

Come analisi secondaria la popolazione totale è stata suddivisa in due coorti omogenee per caratteristiche basali considerando i neonati ricoverati con diagnosi di EII e sottoposti a ipotermia tra il 2015-2017 e tra il 2020-2022, in totale sono stati analizzati i dati di 77 pazienti. L'obiettivo è stato studiare eventuali cambiamenti della pratica clinica nella gestione del neonato asfittico, alla luce di nuove evidenze in letteratura di una tendenza sempre maggiore negli ultimi tempi a sottoporre a ipotermia attiva neonati con diagnosi di EII di grado lieve.

Tabella VI. Caratteristiche demografiche delle due popolazioni

| | 2015/2017 | 2020/2022 |
|---------------------------------|------------------|------------------|
| | Totale 38 | Totale 39 |
| EG (SG, media) | 39 | 38,8 |
| PN (g, media) | 3244 | 3177 |
| Sesso maschile (%) | 22 (58%) | 23 (59%) |
| Outborn (%) | 30 (79%) | 29 (74%) |
| Taglio cesareo (%) | 12 (32%) | 17 (44%) |
| Gemellarità (%) | 0 (0%) | 1 (2.5%) |
| IA a 10 minuti ≤ 5 (%) | 12 (32%) | 11 (28%) |
| pH art cordonale < 7 (%) | 12 (32%) | 19 (49%) |
| EB art cordonale ≥ -12 (%) | 28 (74%) | 25 (64%) |
| Ipoglicemia all'ingresso (%) | 9 (24%) | 7 (18%) |

Le due coorti sono risultate sovrapponibili per numerosità e caratteristiche demografiche. Nella coorte 2015-2017 sono stati coinvolti 38 pazienti. L'età gestazionale media era di 39 settimane, il peso alla nascita medio era di 3244g. I pazienti di sesso maschile, considerato fattore di rischio per asfissia perinatale, erano

22 (58%). I pazienti nati da taglio cesareo sono stati 12 (32%) e 0 da gravidanze gemellari; i pazienti outborn erano 30 (79%). Per quanto riguarda la valutazione neonatale iniziale, un IA ≤ 5 a 10 minuti è stato osservato in 12 pazienti (32%). All'EGA arterioso cordonale 12 pazienti (32%) erano in acidosi con pH <7 e in 28 pazienti (74%) è stato registrato un EB ≥ -12 . 9 pazienti (24%) hanno presentato ipoglicemia all'ingresso.

Nella coorte 2020-2022 sono stati coinvolti 39 pazienti. L'età gestazionale media era di 38,8 settimane, il peso alla nascita medio era di 3177g. I pazienti di sesso maschile erano 23 (59%). I pazienti nati da taglio cesareo sono stati 17 (44%) e 1 da gravidanze gemellari (2,5%); i pazienti outborn sono stati 29 (74%). Per quanto riguarda la valutazione neonatale iniziale, un IA ≤ 5 a 10 minuti è stato osservato in 11 pazienti (28%). All'EGA arterioso cordonale 19 pazienti (49%) erano in acidosi con pH <7 e in 25 pazienti (64%) è stato registrato un EB ≥ -12 . 7 pazienti (18%) hanno presentato ipoglicemia all'ingresso.

Tabella VII. Criteri per la valutazione della severità dell'encefalopatia ipossico-ischemica

| | | 2015/2017 | 2020/2022 | p |
|--|----------------------------------|------------------|------------------|---------------|
| | | Totale 38 | Totale 39 | |
| Esame neurologico secondo Sarnat a 60 minuti | Score 0 (%) | 1 (2,6%) | 1 (2.5%) | NS |
| | Score 1 (%) | 3 (8%) | 15 (38%) | 0.0024 |
| | Score 2 (%) | 24 (63%) | 19 (49%) | NS |
| | Score 3 (%) | 9 (24%) | 4 (10%) | NS |
| Amplitude integrated EEG | Tracciato normale (%) | 20 (53%) | 14 (36%) | NS |
| | Tracciato discontinuo (%) | 2 (5%) | 12 (31%) | 0.0063 |

| | | | | |
|----------------------|--------------------------|---------|----------|----|
| (aEEG) per 30 minuti | Tracciato ipovoltato (%) | 9 (24%) | 5 (13%) | NS |
| | Tracciato con crisi (%) | 3 (8%) | 1 (2.5%) | NS |

Per valutare il quadro di severità dell'EII conseguita al danno asfittico perinatale, è stato eseguito l'esame neurologico secondo Sarnat che ha permesso di classificare i pazienti in 4 gruppi di crescenti gradi di severità. Nella coorte del 2015-2017 1 paziente (2,6%) ha ricevuto un punteggio di 0, 3 pazienti (8%) un punteggio di 1, 24 (63%) pazienti hanno ottenuto uno score di 2 e 9 pazienti (24%) hanno ricevuto diagnosi di EII di grado severo con score 3. Nella coorte del 2020-2022 1 paziente (2,5%) ha ricevuto un punteggio di 0, 15 pazienti (38%) hanno ricevuto diagnosi di EI di grado lieve con punteggio di 1, 19 neonati (49%) hanno ottenuto uno score di 2 e 4 (10%) neonati sono stati valutati con uno score di 3.

Per quanto riguarda la valutazione neurofisiologica con aEEG, nella prima coorte in 2 pazienti (5%) è stato registrato un tracciato discontinuo, in 9 (24%) un tracciato ipovoltato e in 3 (1%) pazienti è stata registrata la comparsa di crisi epilettiche. 20 neonati (53%) hanno avuto un tracciato aEEG normale. Nella seconda coorte, 14 (36%) pazienti hanno avuto attività elettrica cerebrale nella norma con tracciato continuo, un tracciato discontinuo è stato riscontrato in 12 pazienti (32%), 5 (13%) pazienti hanno registrato un tracciato ipovoltato e un solo paziente ha sviluppato crisi epilettiche (2,5%).

Tabella VIII. Ipotermia terapeutica

| | | 2015/2017 | 2020/2022 | p |
|--|--|------------------|------------------|-------------|
| | | Totale 38 | Totale 39 | |
| TC all'ingresso in TIN | <34 °C | 6 (16%) | 3 (8%) | NS |
| | 34-35 °C | 8 (21%) | 11 (28%) | NS |
| | >36 °C | 11 (29%) | 18 (46%) | NS |
| Ore di vita all'avvio dell'ipotermia (media) | | 3.83 | 4.3 | NS |
| Complicanze trattamento ipotermico | Nessuna | 25 (66%) | 25 (64%) | NS |
| | Ipertensione polmonare | 6 (16%) | 0 (0%) | 0.01 |
| | Bradycardia | 5 (13%) | 4 (10%) | NS |
| | Complicanze ematologiche (piastrinopenia, sanguinamento, trombosi) | 2 (5%) | 3 (8%) | NS |
| | Adiponecrosi | 0 (0%) | 3 (8%) | |
| Sospensione anticipata ipotermia terapeutica (<72 h) | | 3 (8%) | 2 (5%) | |

Tra i pazienti della coorte 2015-2017, la temperatura corporea all'ingresso in TIN era <34°C per 6 pazienti (16%), compresa tra 34-35°C per 8 pazienti (21%) mentre 11 pazienti (29%) avevano temperatura corporea all'ingresso >36°C. L'ipotermia attiva nella prima coorte è stata avviata in media a 3,83 ore di vita, rispettando il criterio temporale di inclusione per tale trattamento dettato dalle linee guida della SIN. Per

quanto riguarda gli effetti avversi del trattamento ipotermico, 6 pazienti (16%) hanno sperimentato ipertensione polmonare, 5 (13%) bradicardia, 2 (5%) complicanze ematologiche, mentre non sono stati registrati casi di adiponecrosi. Per 3 neonati (8%) la gravità degli effetti avversi ha richiesto la sospensione dell'ipotermia in anticipo rispetto alle 72 ore previste. Il 66% dei pazienti (n=25) non ha presentato nessuna complicanza legata al trattamento.

Nel periodo 2020-2022 all'ingresso in TIN 3 neonati (8%) avevano temperatura corporea <34°C, 11 (28%) temperatura tra 34-35°C e 18 neonati (46%) avevano temperatura >36°C. Il trattamento ipotermico è stato avviato in media a 4,3 ore di vita. Durante il periodo di ipotermia sono stati registrati gli effetti avversi al trattamento: 4 pazienti (10%) hanno sperimentato bradicardia, 3 (8%) complicanze ematologiche e 3 (8%) adiponecrosi. Nella seconda coorte in studio non sono stati evidenziati casi di ipertensione polmonare. La sospensione anticipata del trattamento è stata richiesta per 2 pazienti (5%) mentre 25 pazienti (64%) non hanno sperimentato alcun effetto collaterale causato dall'ipotermia.

Tabella IX. Indagini neurologiche

| | 2015/2017 | 2020/2022 | p |
|----------------------------|------------------|------------------|----|
| | Totale 38 | Totale 39 | |
| EEG discontinuo | 22 (58%) | 16 (41%) | NS |
| EEG ipovoltato | 15 (39%) | 9 (23%) | NS |
| BS/low voltage | 4 (11%) | 4 (10%) | NS |
| Crisi | 3 (8%) | 3 (8%) | NS |
| Trattamenti antiepilettici | 20 (53%) | 15 (38%) | NS |
| 1° linea (Fenobarbital) | 15 (39%) | 12 (31%) | NS |
| 2° linea (Dintoina) | 2 (5%) | 1 (2.5%) | NS |
| 3° linea (Midazolam) | 3 (8%) | 1 (2.5%) | NS |

| | | | |
|---|----------|----------|----|
| 4° linea (Levetiracetam/Piridossina) | 0 (0%) | 1 (2.5%) | NS |
| Timing RMN (gg, media) | 6.5 | 5.75 | NS |
| RMN patologica | 11 (29%) | 14 (36%) | NS |

Durante il ricovero in TIN sono stati svolti alcuni accertamenti neurologici. Per quanto riguarda il tracciato EEG nella prima coorte del 2015-2017, 22 pazienti (58%) hanno riportato un tracciato discontinuo, 15 (39%) ipovoltato, 4 (11%) burst-suppression o basso voltaggio e per 3 (8%) pazienti è stata registrata la presenza di crisi epilettiche. Per 20 (53%) pazienti è stata avviata una terapia antiepilettica: 15 (39%) con farmaci di prima linea, 2 (5%) hanno richiesto il ricorso a farmaci di seconda linea, 3 (8%) di terza linea mentre per nessun paziente è stato necessario utilizzare farmaci di quarta linea per il controllo delle crisi. Nella seconda coorte 16 pazienti (41%) hanno riportato un tracciato discontinuo, 9 (23%) ipovoltato, 4 (10%) burst-suppression o basso voltaggio e per 3 (8%) pazienti è stata registrata la presenza di crisi epilettiche. Per 15 (38%) pazienti è stata avviata una terapia antiepilettica: 12 (31%) con farmaci di prima linea, 1 (2,5%) ha richiesto il ricorso a farmaci di seconda linea, 1 (2,5%) di terza linea mentre per 1 paziente (2,5%) è stato necessario utilizzare farmaci di quarta linea per il controllo delle crisi

Per quanto riguarda il neuroimaging, l'età media dei pazienti della prima coorte al momento dell'esecuzione dell'RMN cerebrale era di 6,15 giorni. Le immagini della RMN hanno evidenziato anomalie risultando patologiche in 11 (29%) pazienti. Nella seconda coorte l'età media a cui è stata eseguita l'RMN era 5,75 giorni, le immagini sono risultate patologiche in 14 pazienti (36%).

Tabella X. Follow-up dei pazienti sottoposti a trattamento ipotermico

| Bayley III a 12 mesi | 33 pazienti | 25 pazienti | p |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|----------|
| Cognitivo < 70 | 4 (12%) | 5 (20%) | 0.4 |
| Cognitivo 70-85 | 5 (15%) | 0 (0%) | 0.06 |
| Cognitivo > 85 | 24 (72%) | 20 (80%) | 0.55 |
| Linguaggio < 70 | 4 (12%) | 5 (20%) | 0.4 |
| Linguaggio 70-85 | 3 (9%) | 0 (0%) | 0.25 |
| Linguaggio > 85 | 26 (79%) | 20 (80%) | 1.0 |
| Motorio < 70 | 4 (12%) | 3 (12%) | 1.0 |
| Motorio 70-85 | 3 (9%) | 2 (8%) | 1.0 |
| Motorio > 85 | 26 (79%) | 20 (80%) | 1.0 |
| Bayley III a 24 mesi | 33 pazienti | 17 pazienti | p |
| Cognitivo < 70 | 4 (12%) | 4 (24%) | 0.4 |
| Cognitivo 70-85 | 4 (12%) | 0 (0%) | 0.28 |
| Cognitivo > 85 | 25 (76%) | 13 (76%) | 1.0 |
| Linguaggio < 70 | 5 (15%) | 4 (24%) | 0.7 |
| Linguaggio 70-85 | 5 (15%) | 0 (0%) | 0.14 |
| Linguaggio > 85 | 23 (70%) | 13 (76%) | 0.74 |
| Motorio < 70 | 4 (12%) | 2 (12%) | 1.0 |
| Motorio 70-85 | 3 (9%) | 2 (12%) | 1.0 |
| Motorio > 85 | 26 (72%) | 13 (76%) | 1.0 |

| Paralisi cerebrale infantile (PCI) | | | p |
|---|----------|----------|------|
| No | 26 (79%) | 15 (88%) | 0.15 |
| Lieve | 2 (6%) | 1 (5%) | 1.0 |
| Moderata | 1 (3%) | 1 (5%) | 1.0 |
| Severa | 4 (12%) | 0 (0%) | 0.29 |

33 pazienti della prima coorte e 25 pazienti della seconda hanno seguito il follow-up attraverso la valutazione globale dello sviluppo tramite somministrazione della scala di Bayley III. Per quanto riguarda i risultati della valutazione a 12 mesi della prima coorte, i punteggi della scala cognitiva sono stati <70 per 4 pazienti (12%), tra 70 e 85 per 5 pazienti (15%) mentre per 24 pazienti (72%) la valutazione è risultata nella norma con un punteggio >85. Nella valutazione del linguaggio è stato assegnato un punteggio <70 a 4 bambini (12%), punteggio tra 70 e 85 a 3 bambini (9%) e punteggio nella norma >85 a 26 bambini (79%). Per quanto riguarda la valutazione dello sviluppo motorio, 4 pazienti (12%) hanno raggiunto uno score <70, 3 pazienti (9%) hanno ottenuto un punteggio compreso tra 70 e 85 mentre 26 pazienti (79%) hanno raggiunto un punteggio >85. A 24 mesi tutti e 33 pazienti hanno ripetuto la valutazione. I risultati della scala cognitiva sono stati: 4 pazienti (12%) con punteggio <70, 4 pazienti (12%) con punteggio tra 70 e 85 e 25 pazienti (76%) con sviluppo cognitivo nella norma e punteggio >85. Per quanto riguarda la scala del linguaggio, 5 pazienti (15%) hanno raggiunto un punteggio <70, 5 (15%) hanno ottenuto un punteggio tra 70-85 e a 23 pazienti (70%) è stato assegnato un punteggio >85. Nella valutazione dello sviluppo motorio 4 bambini (12%) hanno ottenuto un punteggio <70, 3 bambini (9%) tra 70-85 e 26 (72%) sono risultati avere uno sviluppo motorio nella norma con punteggio >85. La paralisi cerebrale infantile è stata diagnosticata nella forma lieve in 2 bambini (6%), moderata in 1 bambino (3%) e severa in 4 bambini (12%).

Nella seconda coorte tra il 2020-2022 a 12 mesi i risultati della scala cognitiva sono stati: <70 per 5 pazienti (20%), tra 70 e 85 per nessun paziente mentre per 20 pazienti (80%) la valutazione è risultata nella norma con un punteggio >85. Nella valutazione del linguaggio è stato assegnato un punteggio <70 a 5 bambini (20%), punteggio tra 70 e 85 a nessun bambino e punteggio nella norma >85 a 20 bambini (80%). Per quanto riguarda la valutazione dello sviluppo motorio, 3 pazienti (12%) hanno raggiunto uno score <70, 2 pazienti (8%) hanno ottenuto un punteggio compreso tra 70 e 85 mentre 20 pazienti (80%) hanno raggiunto un punteggio >85. A 24 mesi 17 pazienti hanno ripetuto la valutazione con la scala di Bayley. I risultati della scala cognitiva sono stati: 4 pazienti (24%) con punteggio <70, nessun paziente con punteggio tra 70-85 e 13 pazienti (76%) con sviluppo cognitivo nella norma e punteggio >85. Per quanto riguarda la scala del linguaggio, 4 pazienti (24%) hanno raggiunto un punteggio <70, nessuno ha ottenuto un punteggio tra 70-85 e a 13 pazienti (76%) è stato assegnato un punteggio >85. Nella valutazione dello sviluppo motorio 2 bambini (12%) hanno ottenuto un punteggio <70, 2 bambini (12%) tra 70-85 e 13 (72%) sono risultati avere uno sviluppo motorio nella norma con punteggio >85. La paralisi cerebrale infantile è stata diagnosticata nella forma lieve in 1 bambino (5%), moderata in 1 bambino (5%) e severa in nessun bambino.

RISULTATI ANALISI STATISTICA

La Figura 1 illustra la rete di relazioni stimata tra le sette variabili esaminate. In primo luogo si osserva che tre variabili si associano esclusivamente tra loro, rimanendo fuori dalla rete più ampia: Sarnat a 60 minuti e RM patologica correlano e interagiscono significativamente in Post vs Pre; in particolare, i punteggi Sarnat non patologici statisticamente significativi sono associati principalmente alla condizione Post.

Continuando a descrivere il resto della rete, è evidente che le tre scale di Bayley presentano una forte correlazione positiva tra loro. Inoltre, emerge una forte associazione tra CFM patologico ed EEG patologico.

È importante notare che il CFM patologico emerge come il nodo con il maggior numero di associazioni con altri nodi, il che suggerisce la sua centralità (insieme alle scale di linguaggio Bayley) all'interno della rete. Studi futuri dovrebbero chiarire l'interpretazione della fitta rete di relazioni tra domini neuropsicologici e fisiopatologici osservata nel presente campione. In particolare, emerge un'interazione tra il CFM patologico e i domini neuropsicologici (cognitivo e del linguaggio): un'associazione negativa moderata/debole tra la CFM patologica e la scala cognitiva Bayley, nonostante una relazione positiva tra la CFM patologica e la scala del linguaggio Bayley.

Da un lato, i tre nodi di Bayley che mostrano una relazione positiva tra loro, sono chiaramente interpretati come variabili strettamente correlate e in grado di influenzarsi reciprocamente. D'altra parte, una performance ridotta nella scala cognitiva di Bayley non sorprende se associata al riscontro di CFM patologico. Più impegnativa è l'interpretazione della relazione positiva tra CFM patologico e la scala del linguaggio di Bayley.

Figura 1. La rete stimata rappresenta la matrice di correlazione parziale tra pr = PRE-POST, RMN = RMN, EEp = EEG patologico, CFp = CFM patologico, SA6 = SARNAT a 60', Blc = Bayley III cognitivo, Bll = Bayley III linguaggio, Blm = Bayley III motorio. Le associazioni direttamente proporzionali sono rappresentate da linee verdi, mentre quelle inversamente proporzionali da linee rosse. La dimensione e la densità del colore delle linee variano per riflettere la diversa forza della relazione tra le variabili. Le linee non sono direzionali (nessuna relazione causale) poiché i dati sono rappresentati come correlazioni parziali bivariate tra le variabili. Importante notare che le relazioni presentate nella network analysis raggiungono tutte la significatività statistica (con $\alpha = 0.05$) sopravvivendo alla correzione di Bonferroni per confronti multipli.

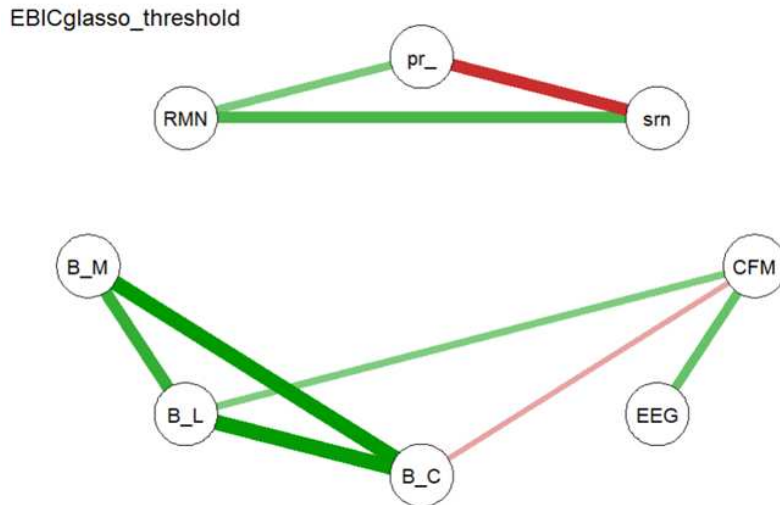


Figura 1

Infine, come controllo della rete, la Figura 2 dimostra che sia la stima conservativa GLASSO che quella non regolarizzata evidenziano la centralità del nodo CFM patologico e delle scale cognitive e linguistiche Bayley nella rete rispetto a tutti gli altri nodi.

Figura 2. Confronto tra tre reti: EBIC = EBICglasso standard; thres = stima EBICglasso più conservativa con una soglia di significatività di $\alpha < 0,05$; b. L'asse Y rappresenta tutti i collegamenti della rete. I nodi rossi indicano i pesi dei collegamenti della rete e l'area grigia rappresenta l'intervallo di confidenza del 95% intorno ai pesi. In entrambi i grafici, l'asse X rappresenta la stima della forza per ogni nodo.

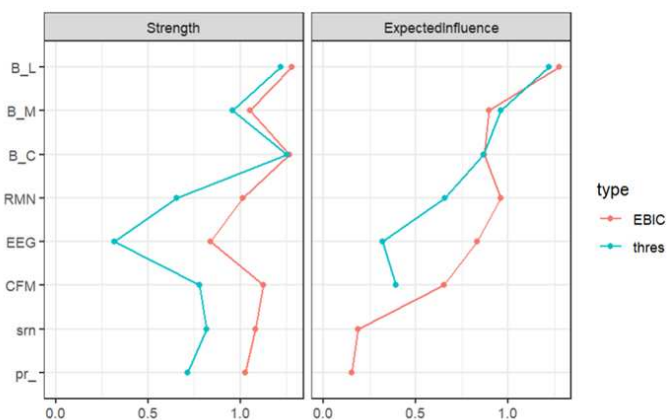


Figura 2

DISCUSSIONE

Nel periodo di 7 anni compreso tra il 2015 e il 2022 sono stati ricoverati presso la Terapia Intensiva Neonatale di Padova 130 neonati con evidenza di esposizione ad un evento di asfissia perinatale. Di questi, il presente studio ha selezionato i 108 con diagnosi di encefalopatia ipossico-ischemica che sono stati sottoposti a trattamento con ipotermia attiva. I principali fattori di rischio fetali di asfissia perinatale sono IUGR, prematurità e sesso maschile. Tra i pazienti in studio il 57% è di sesso maschile mentre l'età gestazionale media era di 39 settimane e il peso medio 3210g sottolineando come l'asfissia non sia una problematica esclusiva dei neonati pretermine o con restrizione della crescita, ma piuttosto una condizione multifattoriale. Un dato rilevante emerso nella valutazione dei dati raccolti è come il 75% dei pazienti inclusi nello studio fosse nato presso un ospedale periferico e successivamente trasferito a Padova attraverso il Servizio di Trasporto Emergente Neonatale (STEN). I neonati asfittici sono a rischio di sviluppare encefalopatia ipossico-ischemica il cui trattamento di scelta è rappresentato dall'ipotermia terapeutica, disponibile solamente in centri di III livello a causa della specificità e continuità del livello di assistenza richiesto. In accordo con le linee guida della Società Italiana di Neonatologia, l'ipotermia terapeutica deve essere avviata entro le 6 ore di vita, per questo motivo risulta un compito fondamentale dei centri di I e II livello individuare precocemente i neonati da trasferire indagando la presenza dei criteri di inclusione per il trattamento ipotermico. Durante il trasporto è importante rimuovere eventuali fonti di calore, spegnere la culla da rianimazione e mantenere una temperatura corporea a circa 35°C, monitorata con sonda rettale o, se non disponibile, con misurazioni della TC ascellare frequenti, almeno ogni 15 minuti. La necessità del trasporto presso il centro di III livello, può portare a chiedersi se i neonati outborn siano maggiormente a rischio di essere sottoposti a ipotermia terapeutica in ritardo rispetto al criterio temporale di 6 ore imposto dalle linee guida e se questo possa essere in qualche modo correlato a un peggioramento dell'outcome. Un trial clinico randomizzato del 2005 ha evidenziato come i neonati outborn avessero una probabilità significativamente maggiore di decesso rispetto ai nati in centri di III livello (odds ratio 10,7, intervallo di confidenza al 95% 1,3-90)¹¹¹. Inoltre in letteratura

sono presenti dati ottenuti da una revisione dei risultati del NICHD trial che evidenziano differenze significative in termini di ritardo dell'avvio dell'ipotermia, temperature basali all'avvio del trattamento inferiori e EII di grado più severo tra i pazienti outborn rispetto a neonati inborn¹¹². Nuove evidenze dimostrano che più precoce è l'avvio dell'ipotermia terapeutica, migliore sarà l'outcome¹¹⁸. Nel presente studio il timing di avvio dell'ipotermia nel Centro di Padova appare negli standard, con una media al di sotto delle 6 ore raccomandate in letteratura, sottolineando l'attenzione al rapido riconoscimento dei neonati da trasferire e il rispetto dei protocolli di gestione da parte dei centri di I e II livello. Tuttavia l'asfissia perinatale riconosce cause pre, intra e post-partum per cui potrebbe essere utile indagare l'adeguatezza della gestione ostetrico-ginecologica e delle nascite negli ospedali periferici per spiegare l'incidenza di tale condizione tra i neonati outborn.

Profilo di sicurezza dell'ipotermia terapeutica

L'ipotermia terapeutica rappresenta ad oggi lo standard of care per i neonati con diagnosi di encefalopatia ipossico-ischemica di grado moderato-severo, avviata entro 6 ore di vita e proseguita per 72 ore ad una temperatura target di 33,5°C. Prima dell'introduzione di tale strategia nella pratica clinica sono stati condotti diversi studi su modelli animali per valutarne il profilo di efficacia e sicurezza¹¹³. Nel 2013⁶⁰ Jacobs e collaboratori hanno condotto una metanalisi su 11 trials clinici randomizzati, con lo scopo di valutare gli effetti benefici dell'ipotermia nei neonati a termine e near term con EII moderata-severa. Nella stessa metanalisi è stato valutato il profilo di sicurezza indagando la severità e frequenza di comparsa degli effetti collaterali legati al trattamento ipotermico. In particolare è stato osservato un aumento dell'incidenza di bradicardia sinusale e complicanze ematologiche, principalmente trombocitopenia. Nel presente studio i principali effetti avversi riscontrati sono stati, in accordo con i dati della letteratura, bradicardia sinusale (n=10, 9%), complicanze ematologiche (n=7, 6%) e ipertensione polmonare (n=7, 6%). Per 6 pazienti la severità degli effetti avversi ha costretto a un'anticipata interruzione del trattamento ipotermico mentre nel 69% dei casi non è stato registrato nessun effetto avverso, confermando i dati riferiti al profilo

di sicurezza dell'ipotermia presenti in letteratura. Un ulteriore effetto avverso evidenziato nella nostra casistica e riportato in letteratura⁶⁰, è il riscontro di adiponecrosi sottocutanea. Nessuno degli effetti collaterali riportati ha avuto conseguenze a lungo termine all'interno della nostra popolazione.

Valutazione outcome a distanza

Come obiettivo primario, il presente studio ha valutato l'outcome neurologico a distanza dei neonati con diagnosi di EII trattati con ipotermia terapeutica presso la U.O.C. di Terapia Intensiva e Patologia Neonatale di Padova dal 2015 al 2022. In particolare sono stati presi in considerazione i punteggi ottenuti alla valutazione con le scale di Bayley III a 12 e 24 mesi. Uno score > 85 è indicativo di uno sviluppo nella norma, tra 70 e 85 è considerato un punteggio indicativo di sviluppo borderline, mentre uno score < 70 è associato a uno sviluppo non adeguato. La scala di Bayley è un test standardizzato che esamina le funzioni intellettive e fornisce misure espresse in quozienti di sviluppo che permettono di conoscere l'andamento evolutivo delle diverse aree dello sviluppo¹⁰⁸. La valutazione delle funzioni intellettive rientra nel follow-up dei pazienti che hanno ricevuto diagnosi di EII per il fatto che il loro deficit è una delle sequele più frequenti e può essere predittivo di difficoltà nell'apprendimento scolastico e difficoltà comportamentali¹¹⁴. In particolare negli studi presenti in letteratura è stata osservata una maggiore incidenza di deficit dell'attenzione e difficoltà nella memorizzazione ed è stato ipotizzato che tali alterazioni possano essere secondarie ad una riduzione del volume dell'ippocampo rilevato in pazienti esposti a un danno cerebrale di tipo ipossico-ischemico, anche in assenza di disabilità neurologiche maggiori¹²⁰. Diversi trials clinici randomizzati sono stati condotti negli anni passati con l'obiettivo di valutare l'effetto benefico dell'ipotermia terapeutica sul neurosviluppo a 18-24 mesi attraverso l'utilizzo della scala di Bayley. In uno studio di Shankaran e collaboratori, è stato valutato come outcome primario l'effetto dell'ipotermia sull'incidenza di decesso e disabilità moderate e severe dello sviluppo definite rispettivamente da un punteggio <70 e compreso tra 70 e 85 nella scala di Bayley II. I risultati di tale studio hanno riportato un'incidenza del 44% dell'outcome primario

considerato¹¹⁵. Nel 2009, con gli stessi obiettivi e metodi è stato condotto un altro trial clinico randomizzato con risultati sovrapponibili. In particolare i neonati con diagnosi di EII trattati con ipotermia terapeutica hanno ottenuto una valutazione dello sviluppo globale tramite la scala di Bayley II <70 nel 24%, tra 70 e 85 nell'8% e >85 nel 68% dei casi, indicativo di sviluppo nella norma¹¹⁶.

Nel presente studio sono stati disponibili i dati relativi al follow-up solamente di 68 pazienti rispetto alla popolazione di partenza di 108 neonati. Il motivo della mancanza di tali dati è da ricercare nell'assenza di una disponibilità costante di professionisti specialisti in psicologia, competenti nella somministrazione di test dello sviluppo psicomotorio, nel periodo dal 2017 e il 2020; mentre per quanto riguarda la numerosità del campione a 24 mesi, bisogna considerare che i pazienti nati nel 2021-2022 non hanno ancora l'età per ripetere la valutazione. Sono stati valutati i punteggi ottenuti nelle scale a somministrazione diretta: cognitiva, motoria e del linguaggio. I dati ottenuti sono compatibili con i risultati presenti in letteratura¹¹⁶. In particolare a 12 mesi, uno sviluppo nella norma è stato raggiunto dall'80% (n=54) nella valutazione cognitiva, 82% (n=56) nella valutazione del linguaggio e 82% (n=56) nella valutazione motoria. A 24 mesi, considerando la riduzione della numerosità dei pazienti, i risultati sono pressoché sovrapponibili, con un lieve trend in peggioramento: un punteggio > 85 è stato ottenuto dal 75% (n=45) nella valutazione cognitiva, 72% (n=43) nella valutazione del linguaggio e 77% (n=46) nella valutazione motoria. La rivalutazione a distanza di 12 mesi è prevista per il fatto che i quozienti di sviluppo potrebbero peggiorare se il bambino non viene supportato con interventi mirati. Inoltre in letteratura sono presenti studi che hanno riscontrato un'elevata concordanza tra la valutazione della disabilità moderata o grave a 18-22 mesi e le valutazioni simili a 6-7 anni, sottolineando l'importanza del follow-up per poter pianificare adeguata presa in carico multidisciplinare per questa categoria di pazienti¹⁰⁹. A tal proposito, nel 2022, la Società Italiana di Neonatologia, ha presentato il nuovo manuale del follow-up, raccomandando il proseguimento della presa in carico dei neonati pretermine e patologici fino all'età scolare e somministrazione di scale di intelligenza a 4 e 6 anni¹¹⁹. Con la Delibera Regionale n° 904 del 26/07/2022 “Modello gestazionale ed organizzativo per il follow-up del neonato a rischio”, la Regione Veneto è stata una

delle prime regioni in Italia ad aderire a questa nuova gestione della presa in carico del neonato patologico.

Confronto tra due coorti

Come ulteriore obiettivo secondario, il nostro studio ha suddiviso i pazienti sottoposti a ipotermia presso la Terapia Intensiva Neonatale di Padova in due coorti, omogenee per caratteristiche basali, per valutare eventuali cambiamenti negli anni nella pratica clinica nella gestione dei neonati con diagnosi EII. La prima popolazione ha compreso i pazienti nati tra il 2015 e il 2017 mentre la seconda i nati tra il 2020 e il 2022. Il motivo di questa suddivisione è dato dall'assenza di disponibilità dei dati relativi al follow-up dei pazienti nati tra il 2017 e il 2020 e dall'evidenza, nello stesso periodo, della pubblicazione di diversi articoli sulla gestione dei neonati asfittici, in particolare con EII di grado lieve.

L'evidenza maggiormente significativa emersa dal confronto dei dati nei due periodi riguarda la valutazione neurologica utilizzata come criterio di inclusione per il trattamento ipotermico. Per quanto riguarda la valutazione secondo Sarnat, è risultato statisticamente significativo ($p=0,0024$) l'aumento di neonati con score 1 sottoposti ad ipotermia, nel secondo periodo considerato rispetto al primo: 3 (8%) nel 2015-2017 mentre 15 (38%) nel 2020-2022. Questa categoria di pazienti con EII di grado lieve generalmente viene esclusa dal trattamento con ipotermia in accordo con le linee guida, tuttavia, secondo le Raccomandazioni della Società Italiana di Neonatologia del 2016 la valutazione neurologica è completata con una valutazione dell'attività elettrica cerebrale tramite monitoraggio di 30 minuti con CFM. Nel presente studio è stato osservato un aumento significativo ($p=0,0063$) dei neonati con CFM discontinuo (5% nella prima coorte e 31% nella seconda), ossia pattern alterato considerato indicativo della necessità di iniziare il trattamento ipotermico. Questa valutazione complementare ha quindi permesso ad una discreta percentuale di pazienti di beneficiare degli effetti neuroprotettivi del trattamento ipotermico da cui altrimenti sarebbero stati esclusi se si fosse considerato solamente lo score di Sarnat. Dalla considerazione di queste evidenze, si può concludere che negli anni la valutazione neurofisiologica abbia

assunto un ruolo sempre maggiore nella valutazione dei neonati con EII e come criterio di inclusione del trattamento ipotermico. Questa differenza può essere riconducibile ad una migliore capacità di lettura dei tracciati, data da un'esperienza accumulata negli anni circa l'utilizzo della strumentazione neurofisiologica. Di recente è stata pubblicata una revisione della letteratura con lo scopo di fornire raccomandazioni chiare ma flessibili sull'utilizzo dell'aEEG nella gestione del neonato critico, adeguate alle diverse Unità Neonatali con diversi livelli di complessità in base alle risorse locali e alle caratteristiche specifiche del paziente, che ha permesso una migliore capacità di comprensione dei tracciati¹¹⁷.

Nonostante una maggior accuratezza nell'identificazione dei neonati candidabili al trattamento ipotermico, l'analisi successiva dei dati relativi al follow-up non ha evidenziato differenze statisticamente significative di outcome neurologico tra le due coorti in studio.

Indicatori prognostici precoci

Come ulteriore obiettivo secondario, il presente studio ha ricercato, attraverso un'analisi multivariata condotta con network analysis, una possibile correlazione tra clinica, neuroimaging e esami neurofisiologici con il neurosviluppo a distanza dei pazienti con EII e trattati con ipotermia terapeutica. In particolare le variabili considerate sono state: CFM patologico, EEG patologico, Sarnat a 60', RMN patologica da correlare con il punteggio delle scale di Bayley III nei domini cognitivo, linguaggio e motorio.

CFM E OUTCOME

Ciò che è emerso dall'analisi è il ruolo del CFM patologico come la variabile centrale con il maggior numero di associazioni con le altre variabili. L'amplitude EEG (aEEG), detto anche CFM, ovvero Cerebral Function Monitor, è un sistema di monitoraggio dell'attività cerebrale che rappresenta una valida alternativa nella pratica clinica in caso non vi sia a disposizione un monitoraggio continuo con EEG completo o video-EEG. Nel contesto della Terapia Intensiva Neonatale il CFM è un utile strumento

ampiamente utilizzato per il monitoraggio del neonato critico. Nei neonati con asfissia perinatale, l'interpretazione del tracciato è la chiave per identificare pazienti con attività elettrica cerebrale alterata candidabili al trattamento con ipotermia attiva e identificare l'eventuale comparsa di episodi critici. Di recente è stata pubblicata, da un gruppo di ricerca interdisciplinare italiano, una revisione sistematica della letteratura per elaborare raccomandazioni condivise circa un protocollo di valutazione e monitoraggio EEG ed aEEG nei neonati, applicabile dalle unità neonatali in base alle risorse locali e alle caratteristiche del paziente¹¹⁷. In particolare è stata redatta una dichiarazione di consenso sull'utilizzo di vEEG e aEEG per le principali indicazioni neonatali. Per quanto riguarda il protocollo di valutazione neurofisiologica per neonati con EII candidabili all'ipotermia terapeutica, viene raccomandato l'utilizzo di vEEG per almeno 30 minuti come gold standard mentre, come opzione alternativa, aEEG almeno per 30 minuti. Il monitoraggio continuo è invece raccomandato per tutta la durata dell'ipotermia e successiva fase di riscaldamento graduale.

Oltre ad essere un utile strumento diagnostico e di monitoraggio, diversi studi presenti in letteratura hanno dimostrato il valore del CFM come indicatore prognostico precoce dell'outcome neurologico a distanza dei neonati con EII. Nel 2012, Massaro e collaboratori hanno condotto uno studio retrospettivo valutando i tracciati di fondo e i cicli sonno-veglia di 75 neonati encefalopatici sottoposti a trattamento ipotermico. Sono stati eseguiti calcoli di sensibilità e specificità per valutare la capacità dell'aEEG di avere un valore predittivo di decesso o grave anomalia all'RM grave o un deficit neurologico significativo alla dimissione concludendo che un tracciato aEEG patologico è indicativo di esito neurologico sfavorevole a 18-22 mesi. In particolare il persistere di anomalie al tracciato di fondo dell'EEG oltre le 48 ore di vita e la mancanza di cicli sonno-veglia nel corso dell'ipotermia sono predittivi di prognosi sfavorevole⁶⁵.

Nel 2013 è stata condotta una revisione sistematica con l'obiettivo di indagare il valore prognostico dei test clinici attualmente utilizzati nei pazienti neonatali con asfissia perinatale e EII, sottolineando la necessità di disporre di fattori prognostici affidabili dato il rischio elevato di sequele neurologiche in questa categoria di pazienti. Sono stati inclusi nella revisione gli studi che hanno valutato l'outcome in neonati a termine con

asfissia perinatale e EII attraverso test prognostici e hanno riportato i risultati del follow-up a un'età minima di 18 mesi. Tra i 13 test prognostici valutati, aEEG è stato dimostrato il più promettente, con una sensibilità del 93% [intervallo di confidenza 95% 0,78-0,98] e specificità 90% [0,60-0,98]¹²¹

Nel presente studio, l'associazione più rilevante evidenziata dalla network analysis, è stata una correlazione inversamente proporzionale tra il CFM patologico e il punteggio ottenuto nella valutazione della scala cognitiva di Bayley III confermando il valore prognostico di questo strumento e la correlazione di un tracciato patologico e l'outcome neurologico a distanza sfavorevole. La forza della relazione tra le variabili è espressa della dimensione e intensità del colore della linea che le collega.

LIMITI DELLO STUDIO

Il presente studio presenta alcuni limiti legati all'indagine retrospettiva e l'assenza di un gruppo di controllo. Non è stato possibile ottenere per ogni paziente tutti i dati per ciascuna variabile in studio e la numerosità dei dati del follow-up disponibili è limitata.

CONCLUSIONI

L'encefalopatia ipossico-ischemica (EII) è un evento raro e rappresenta la più severa conseguenza neurologica di un evento di asfissia perinatale. L'ipotermia attiva rappresenta il protocollo terapeutico standard destinato ai neonati con diagnosi di EII moderata-severa. Tale strategia terapeutica gode di un ottimo profilo di sicurezza essendo associata a scarsi effetti collaterali e risulta efficace nel garantire buoni outcome neurologici a distanza nei pazienti trattati. Il tracciato CFM risulta uno strumento fondamentale per l'inquadramento e il monitoraggio del neonato con EII nonché utile strumento prognostico dello sviluppo a distanza.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ McGuire W. Perinatal Asphyxia, *BMJ Clin Evid.* 2007 Nov 7;2007.
- ² Graham EM, Ruis KA, Hartman AL, Northington FJ, Fox HE. A systematic review of the role of intrapartum hypoxia–ischemia in the causation of neonatal encephalopathy. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(6): 587–595.
- ³ Shankaran S: Neonatal encephalopathy: treatment with hypothermia. *J Neurotrauma* 2009; 26(3): 437–443.
- ⁴ Shankaran S. Prevention, diagnosis, and treatment of cerebral palsy in near-term and term infants. *Clin Obstet Gynecol.* 2008 Dec;51(4):829–839. Review.
- ⁵ Wang Q, Lv H, Lu B et al. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy: emerging therapeutic strategies based on pathophysiologic phase of the injury. *J. Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(21): 3685-3692.
- ⁶ Ancora G, Pomero G., Ferrari F.; Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica candidato al trattamento ipotermico, Gruppo di studio di Neurologia Neonatale della Società Italiana di Neurologia, II edizione 2016.
- ⁷ De Vries L.S. and Glass H.C., *Handbook of Clinical Neurology*, Vol. 162 (3rd series) Neonatal Neurology. Editors 2019 Elsevier B.V.
- ⁸ Lupton AR, Shankaran S, Ambalavanan N, et al; Hypothermia Subcommittee of the NICHD Neonatal Research Network. Outcome of term infants using Apgar scores at 10 minutes following hypoxic–ischemic encephalopathy. *Pediatrics.* 2009;124(6):1619–1626.
- ⁹ Lear CA, Wassink G, Westgate JA et al. The peripheral chemoreflex—indefatigable guardian of fetal physiological adaptation to labour. *J Physiol* 2018; 596: 5611–5623
- ¹⁰ Malin GL, Morris RK, Khan KS. Strength of association between umbilical cord pH and perinatal and long term outcomes: Systematic review and meta-analysis. *BMJ.* 2010;340:c1471.
- ¹¹ Lauren C. Weeke, Floris Groenendaal, Kalyani Mudigonda, Mats Blennow, Maarten H. Lequin, Linda C. Meiners, Ingrid C. van Haastert, Manon J. Benders, Boubou Hallberg, Linda S. de Vries,
A Novel Magnetic Resonance Imaging Score Predicts Neurodevelopmental Outcome After Perinatal Asphyxia and Therapeutic Hypothermia, *The Journal of Pediatrics*, 2018, Pages 33-40.e2, ISSN 0022-3476,
- ¹² van Bel F, Groenendaal F. Birth asphyxia-induced brain damage: the long road to optimal reduction and prevention! *Pediatr Med* 2020; 3:3-9.
- ¹³ Volpe JJ. *Neurology of the Newborn.* Sesta edizione.; 2017.

-
- ¹⁴ Neonatal encephalopathy and neurologic outcome, second edition. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol* 2019.
- ¹⁵ Galinsky R, Lear CA, Dean JM et al. Complex interactions between hypoxia–ischemia and inflammation in preterm brain injury. *Dev Med Child Neurol* 2018; 60: 126–133
- ¹⁶ Bennet L. Sex, drugs and rock and roll: tales from preterm fetal life. *J Physiol* 2017; 595: 1865–1881
- ¹⁷ *Anales de Pediatría* 97 (2022) 280.e1---280.e8
- ¹⁸ Sweetman DU, Molloy EJ. Biomarkers of acute kidney injury in neonatal encephalopathy. *Eur J Pediatr*. 2013;172:305-16.
- ¹⁹ Xiong T, Dong W, Fu H, Li Q, Deng C, Lei X, et al. Involvement of the nuclear factor-B pathway in the adhesion of neutrophils to renal tubular cells after injury induced by neonatal postasphyxial serum. *Mol Cell Biochem*. 2014;388:85-94.
- ²⁰ Stola A, Perlman J. Post-resuscitation strategies to avoid ongoing injury following intrapartum hypoxia-ischemia. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2008;13:424---31.
- ²¹ Aslam S, Molloy EJ. Biomarkers of multiorgan injury in neonatal encephalopathy. *Biomark Med*. 2015;9:267---75.
- ²² Popescu MR, Panaitescu AM, Pavel B, Zagrean L, Peltecu G, Zagrean AM. Getting an early start in understanding perinatal asphyxia impact on the cardiovascular system. *Front Pediatr*. 2020;8:1---18.
- ²³ Hankins GDV, Koen S, Gei AF, Lopez SM, van Hook JW, Anderson GD. Neonatal organ system injury in acute birth asphyxia sufficient to result in neonatal encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2002;99:688---91.
- ²⁴ Gurgul S, Buyukakilli B, Komur M, Okuyaz C, Balli E, Ozcan T. Does levetiracetam administration prevent cardiac damage in adulthood rats following neonatal hypoxia/ischemia-induced brain injury? *Medicina (Lithuania)*. 2018;54:1---15.
- ²⁵ Ikeda T, Murata Y, Quilligan EJ, Parer JT, Murayama T, Koono M. Histologic and biochemical study of the brain, heart, kidney and liver in asphyxia caused by occlusion of the umbilical cord in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;182:449---57.
- ²⁶ Barnett CP, Perlman M, Ekert PG. Clinicopathological correlations in postasphyxial organ damage: A donor organ perspective. *Pediatrics*. 1997;99:797---9.
- ²⁷ Chessells JM, Wigglesworth JS. Coagulation studies in severe birth asphyxia. *Arch Dis Child*. 1971;46:253---6.
- ²⁸ Martín-Ancel A, García-Alix A, Cabanas ~ FGF, Burgueros M, Quero J. Multiple organ involvement in perinatal asphyxia. *J Pediatr*. 1995;127:786---93.

-
- ²⁹ Thornton KM, Dai H, Septer S, Petrikin JE. Effects of whole body therapeutic hypothermia on gastrointestinal morbidity and feeding tolerance in infants with hypoxic ischemic encephalopathy. *Int J Pediatr*. 2014;2014:1---7.
- ³⁰ Polglase GR, Ong T, Hillman NH. Cardiovascular alterations and multiorgan dysfunction after birth asphyxia. *Clin Perinatol*. 2016;43:469---83.
- ³¹ Montaldo P, Rosso R, Chello G et al. Cardiac troponin I concentrations as a marker of neurodevelopmental outcome at 18 months in newborns with perinatal asphyxia. *J Perinatol*. Apr;34(4):292-5.
- ³² Krarzer I et al. Barrier mechanism in neonatal stroke. *Front Neurosci* 2014;8:359-71.
- ³³ Lorek A, Takei Y, Cady EB et al. Delayed ("secondary") cerebral energy failure after acute hypoxia-ischemia in the newborn piglet: continuous 48-hour studies by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res* 1994; 36: 699-706
- ³⁴ Wyatt JS, Edwards AD, Azzopardi D et al. Magnetic resonance and near infrared spectroscopy for investigation of perinatal hypoxic-ischaemic brain injury. *Arch Dis Child* 1998; 64: 953-963.
- ³⁵ Douglas-Escobar M, Weiss MD. Hypoxic-ischemic encephalopathy: A review for the Clinician. *J Pediatr*. 2015; 169(4): 397-403.
- ³⁶ Tan WK, Williams CE, During MJ et al. Accumulation of cytotoxins during the development of seizures and edema after hypoxic-ischemic injury in late gestation fetal sheep. *Pediatr Res* 1996; 39: 791-797
- ³⁷ Roth SC, Baudin J, Cady E et al. Relation of deranged neonatal cerebral oxidative metabolism with neurodevelopmental outcome and head circumference at 4 years. *Dev Med Child Neurol* 1997;39: 718-725.
- ³⁸ Fleiss, B.; Gressens, P. Tertiary mechanisms of brain damage: A new hope for treatment of cerebral palsy? *Lancet Neurol*. 2012, 11, 556-566 *Front Neurosci*. 2014 Feb 27;8:40
- ³⁹ Chaparro-Huerta V, Flores-Soto ME, Merin Sigala ME, et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatr Neonatol*. 2017;58(1):70-76.
- ⁴⁰ Azzopardi D, Wyatt JS, Cady EB et al. (1989). Prognosis of newborn infants with hypoxic-ischemic brain injury assessed by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *Pediatr Res* 25: 445-451
- ⁴¹ Vannucci RC, Towfighi J, Vannucci SJ (2004). Secondary energy failure after cerebral hypoxia-ischemia in the immature rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 24: 1090-1097
- ⁴² Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol* 1976; 33: 696-705
- ⁴³ Lipper EG, Voorhies TM, Ross G, Vannucci RC, Auld PA. Early predictors of one-year outcome for infants asphyxiated at birth. *Dev Med Child Neurol* 1986;28:303-9.

-
- ⁴⁴ Vasudevan C, Levene M., Epidemiology and aetiology of neonatal seizures. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 18 (2013) 185e191
- ⁴⁵ Boylan G., Kharoshankaya L., Wusthoff C, Seizures and hypothermia: Importance of electroencephalographic monitoring and considerations for treatment, *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2015; 20:103-108
- ⁴⁶ Salas J, Tekes A, Hwang M, Northington FJ, Huisman TAGM. Head Ultrasound in Neonatal Hypoxic-Ischemic Injury and Its Mimickers for Clinicians: A Review of the Patterns of Injury and the Evolution of Findings Over Time. *Neonatology*. 2018;114(3):185-197
- ⁴⁷ Siegel MJ, Shackelford GD, Perlman JM, Fulling KH. Hypoxic-ischemic encephalopathy in term infants: diagnosis and prognosis evaluated by ultrasound. *Radiology* 1984;152:395–9
- ⁴⁸ Barnette AR, Horbar JD, Soll RF, et al. Neuroimaging in the evaluation of neonatal encephalopathy. *Pediatrics* 2014;133:e1508–17
- ⁴⁹ Chau V, Poskitt KJ, Sargent MA, et al. Comparison of computer tomography and magnetic resonance imaging scans on the third day of life in term newborns with neonatal encephalopathy. *Pediatrics* 2009;123:319–26.
- ⁵⁰ Zhang Y, Zhang JL, Li Y. Computed tomography diagnosis of neonatal hypoxic–ischemic encephalopathy combined with intracranial hemorrhage and clinical nursing treatment. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2016;30(2):511–515.
- ⁵¹ Groenendaal F, de Vries LS. Fifty years of brain imaging in neonatal encephalopathy following perinatal asphyxia. *Pediatr Res*. 2017 81(1-2):150-155
- ⁵² Ment LR, Bada HS, Barnes P, et al. Practice parameter: neuroimaging of the neonate: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Committee of the Child Neurology Society. *Neurology*. 2002;58: 1726-1738
- ⁵³ Task Force on Neonatal Encephalopathy. Executive summary: neonatal encephalopathy and neurologic outcome, second edition. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists’ Task Force on Neonatal Encephalopathy. *Obstet Gynecol*. 2014;123:896-901
- ⁵⁴ Ken Imai, Linda S. de Vries, Thomas Alderliesten, Nienke Wagenaar, Niek E. van der Aa, Maarten H. Lequin, Manon J.N.L. Benders, Ingrid C. van Haastert, Floris Groenendaal; MRI Changes in the Thalamus and Basal Ganglia of Full-Term Neonates with Perinatal Asphyxia. *Neonatology* 19 September 2018; 114 (3): 253–260.
- ⁵⁵ Thayyil S, Chandrasekaran M, Taylor A, et al. Cerebral magnetic resonance biomarkers in neonatal encephalopathy: a meta-analysis. *Pediatrics*. 2010;125:e382-e395.
- ⁵⁶ De Haan HH, Gunn AJ, Williams CE et al. (1997a). Brief repeated umbilical cord occlusions cause sustained cytotoxic cerebral edema and focal infarcts in near-term fetal lambs. *Pediatr Res* 41: 96–104
- ⁵⁷ De Vries LS, Groenendaal F: Patterns of neonatal hypoxic-ischaemic brain injury. *Neuroradiology* 2010;52:555–566

-
- ⁵⁸ Liu X, Jary S, Cowan F et al. Reduced infancy and childhood epilepsy following hypothermia-treated neonatal encephalopathy. *Epilepsia* 2017;58: 1902–1911.
- ⁵⁹ Scher MS, Alvin J, Gaus L, Minnigh B, Painter MJ. Uncoupling of EEG-clinical neonatal seizures after antiepileptic drug use. *Pediatr Neurol* 2003;28: 277e80
- ⁶⁰ Glass HC, Pham TN, Danielsen B, Towner D, Glidden D, Wu YW. Antenatal and intrapartum risk factors for seizures in term newborns: a population-based study, California 1998- 2002. *J Pediatr* 2009;154:24e28.e1
- ⁶¹ Shah DK, Wusthoff CJ, Clarke P, et al. Electrographic seizures are associated with brain injury in newborns undergoing therapeutic hypothermia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2014;99(3):219–224.
- ⁶² Bustamante-Hervás C, Valverde E, Vega-Del-Val C, Schuffelmann S, Arnaez J. Concordancia interobservador del electroencefalograma integrado por amplitud en el neonato con asfixia perinatal. *An Pediatr (Barc).* 2022;96:416---421.
- ⁶³ Liu JF, Wu HW, Li ZG, Lu GZ, Yang X. aEEG monitoring analysis of lesion degree and long-term prognosis in newborns with HIE. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(13):2863–2867.
- ⁶⁴ Sewell EK, Vezina G, Chang T, et al. Evolution of amplitude-integrated electroencephalogram as a predictor of outcome in term encephalopathic neonates receiving therapeutic hypothermia. *Am J Perinatol.* 2018;35(3):277–285.
- ⁶⁵ Massaro A.N., Tsuchida T, Kadom N. aEEG Evolution during Therapeutic Hypotermia and prediction of NICU Outcome in Encephalopathic Neonates. *Neonatology* 2012;102:197–202
- ⁶⁶ Chandrasekaran M, Chaban B, Montaldo P, Thayyil S. Predictive value of amplitude-integrated EEG (aEEG) after rescue hypothermic neuroprotection for hypoxic–ischemic encephalopathy: A meta-analysis. *J Perinatol.* 2017;37(6):684–689.
- ⁶⁷ . Thoresen M, HellstromTWestas L, Liu X, de Vries LS. Effect of hypothermia on amplitudeTintegrated electroencephalogram in infants with asphyxia. *Pediatrics* 2010; 126:e 131T9.
- ⁶⁸ Nolan JP, Maconochie I, Soar J, Olasveengen TM, Greif R, Wyckoff MH, Singletary EM, Aickin R, Berg KM, Mancini ME, Bhanji F, Wyllie J, Zideman D, Neumar RW, Perkins GD, Castrén M, Morley PT, Montgomery WH, Nadkarni VM, Billi JE, Merchant RM, de Caen A, Escalante-Kanashiro R, Kloeck D, Wang TL, Hazinski MF. Executive Summary 2020 International Consensus on Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care Science With Treatment Recommendations. *Resuscitation.* 2020 Nov;156:A1-A22. doi: 10.1016/j.resuscitation.2020.09.009. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33098915; PMCID: PMC7576314.

-
- ⁶⁹ Vento M, Escrig R, Saenz P, Izquierdo I, Sastre J, Viña J. Does oxygen concentration used for resuscitation influence outcome of asphyxiated newly born infants treated with hypothermia? *Pediatrics*. 2006 Jun;117(6):2326T8.
- ⁷⁰ Silveira RC, Procianoy RS. Hypothermia therapy for newborns with hypoxic ischemic encephalopathy. *J Pediatr (Rio J)*. 2015;S91:78---83.
- ⁷¹ Abate BB, Bimerew M, Gebremichael B, Mengesha Kassie A, Kassaw M, Gebremeskel T, et al.: Effects of therapeutic hypothermia on death among asphyxiated neonates with hypoxicischemic encephalopathy: A systematic review and meta-analysis of randomized control trials. *PLoS ONE*, 2021, 16(2): e0247229.
- ⁷² Jacobs SE, Berg M, Hunt R et al. (2013). Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;(1): CD003311.
- ⁷³ Committee on fetus and newborn, American Academy of Pediatrics: Hypothermia and Neonatal Encephalopathy, *Pediatrics* 2014;133;1146
- ⁷⁴ Wintermark P, Hansen A, Warfield SK, Dukhovny D, Soul JS. Near-infrared spectroscopy versus magnetic resonance imaging to study brain perfusion in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Neuroimage*. 2014;85:287---93.
- ⁷⁵ Jacobs SE, Morley CJ, Inder TE, et al; Infant Cooling Evaluation Collaboration. Wholebody hypothermia for term and near-term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2011 Aug;165(8):692-700
- ⁷⁶ Shankaran S, Laptook AR, Tyson JE, Ehrenkranz RA, Bann CM, Higgins RD, et al. Evolution of encephalopathy during whole body hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr*. 2012;160:567---72.
- ⁷⁷ Laptook AR, Therapeutic Hypothermia for Preterm Infants with Hypoxic Ischemic Encephalopathy: How Do We Move Forward? *J Pediatr*. 2017;183:8-9.
- ⁷⁸ Westgate J, Wassink G, Bennet L et al. (2005). Spontaneous hypoxia in multiple pregnancy is associated with early fetal decompensation and greater T wave elevation during brief repeated cord occlusion in near-term fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol* 193: 1526–1533
- ⁷⁹ Gunn AJ, Gunn TR, Gunning MI et al. Neuroprotection with prolonged head cooling started before postischemic seizures in fetal sheep. *Pediatrics* 1998;102: 1098–1106
- ⁸⁰ Busto R, Globus MY, Dietrich WD et al. Effect of mild hypothermia on ischemia-induced release of neurotransmitters and free fatty acids in rat brain. *Stroke* 1989;20:904–10
- ⁸¹ Ohmura A, Nakajima W, Ishida A, Yasuoka N, Kawamura M, Miura S, et al. Prolonged hypothermia protects neonatal rat brain against hypoxic-ischemia by reducing both apoptosis and necrosis. *Brain Dev*. 2005;27:517---26.
- ⁸² Hagmann CF, Robertson NJ, Azzopardi D. Artifacts on electroencephalograms may influence the amplitudeTintegrated EEG classification: a qualitative analysis in neonatal encephalopathy. *Pediatrics*. 2006 Dec;118(6):2552T4.

-
- ⁸³ Kereafor A, Allsop J, Counsell SJ, Fitzpatrick J, Azzopardi D, Rutheford MA, Cowan FM. Patterns of brain injury in neonates exposed to perinatal sentinel events. *Pediatrics* 2008; 121:906T14.
- ⁸⁴ El-Dib M, Inder TE, Chalak LF, Massaro AN, Thoresen M, Gunn AJ. Should therapeutic hypothermia be offered to babies with mild neonatal encephalopathy in the first 6h after birth? *Pediatr Res*. 2019 Mar;85(4):442–8.
- ⁸⁵ Kariholu U, Montaldo P, Markati T, Lally PJ, Pryce R, Teiserskas J, et al. Therapeutic hypothermia for mild neonatal encephalopathy: asystematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2020 Mar; 105(2):225–8.
- ⁸⁶ DuPont TL, Chalak LF, Morriss MC, Burchfield PJ, Christie L, Sanchez PJ. Short-term outcomes of newborns with perinatal acidemia who are not eligible for systemic hypothermia therapy. *J Pediatr*. 2013;162(1):35–41.
- ⁸⁷ Conway JM, Walsh BH, Boylan GB, Murray DM. Mild hypoxic ischaemic encephalopathy and long term neurodevelopmental outcome – A systematic review. *Early Hum Dev*. 2018;120:80–7.
- ⁸⁸ Finder M, Boylan GB, Twomey D, Ahearne C, Murray DM, Hallberg B. Two-year neurodevelopmental outcomes after mild hypoxic ischemic encephalopathy in the era of therapeutic hypothermia. *JAMA Pediatr*. 2019 Nov;174(1):48–55.
- ⁸⁹ *Neonatology* 2020;117:488–494 DOI: 10.1159/000508710
- ⁹⁰ Montaldo P, Lally PJ, Oliveira V, Swamy R, Mendoza J, Atreja G, et al. Therapeutic hypothermia initiated within 6 hours of birth is associated with reduced brain injury on MR biomarkers in mild hypoxic-ischaemic encephalopathy: a non-randomised cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019 Sep;104(5):F515–20.
- ⁹¹ Pfister RH, Bingham P, Edwards EM, et al. The Vermont Oxford Neonatal Encephalopathy Registry: rationale, methods, and initial results. *BMC Pediatr*. 2012;12:84
- ⁹² Ashwood ER, Kost G, Kenny M. Temperature correction of blood T_{gas} and pH measurements. *Clin Chem*. 1983 Nov;29(11):1877T85.
- ⁹³ Sarkar S, Barks JD. Systemic complications and hypothermia. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2010;15:270---5.
- ⁹⁴ Higgins RD, Raju TNK, Perlman J, et al. Hypothermia and perinatal asphyxia: executive summary of the National Institute of Child Health and Human Development workshop. *J Pediatr*. 2006 Feb;148(2):170-175.
- ⁹⁵ Nagai A, Nakagawa E, Choi HB, Hatori K, Kobayashi S, Kim SU (2001) Erythropoietin and erythropoietin receptors in human CNS neurons, astrocytes, microglia, and oligodendrocytes grown in culture. *J Neuropathol Exp Neurol* 60:386–392.

-
- ⁹⁶ Kaneko N, Kako E, Sawamoto K (2013) Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives. *Front Cell Neurosci* 7:235.
- ⁹⁷ Xiong Y, Mahmood A, Meng Y, Zhang Y, Qu C, Schallert T, Chopp M (2010) Delayed administration of erythropoietin reducing hippocampal cell loss, enhancing angiogenesis and neurogenesis, and improves functional outcome following traumatic brain injury in rats: comparison of treatment with single and triple dose. *J Neurosurg* 113:598–608.
- ⁹⁸ Wang L, Zhang ZG, Zhang RL, Gregg SR, Hozeska-Solgot A, LeTourneau Y, Wang Y, Chopp M (2006) Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9 secreted by erythropoietin-activated endothelial cells promote neural progenitor cell migration. *J Neurosci* 26:5996–6003.
- ⁹⁹ Juul SE, Comstock BA, Heagerty PJ, Mayock DE, Goodman AM, Hauge S, Gonzalez F, Wu YW (2018) High-dose erythropoietin for asphyxia and encephalopathy (HEAL): a randomized controlled trial-background, aims, and study protocol. *Neonatology* 113:331–338.
- ¹⁰⁰ Morales MM, Montaldo P, Ivain P, et al. Association of Total Sarnat Score with brain injury and neurodevelopmental outcomes after neonatal encephalopathy. *Arch Dis Child – Fetal Neonatal Ed.* 2021;106(6):669-672
- ¹⁰¹ Ahearne C., Boylan G., Deirdre M. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: An update. *World J Clin Pediatr.* 2016 Feb 8;5(1):67-74.
- ¹⁰² Skranes JH, Løhaugen G, Schumacher EM, et al. Amplitude-Integrated Electroencephalography Improves the Identification of Infants with Encephalopathy for Therapeutic Hypothermia and Predicts Neurodevelopmental Outcomes at 2 Years of Age. *J Pediatr.* 2017;187:34-42
- ¹⁰³ Thoresen M, Jary S, Walløe L, et al. MRI combined with early clinical variables are excellent outcome predictors for newborn infants undergoing therapeutic hypothermia after perinatal asphyxia. *EClinicalMedicine.* 2021;36:100885
- ¹⁰⁴ Lally PJ, Montaldo P, Oliveira V, et al. Magnetic resonance spectroscopy assessment of brain injury after moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: a prospective multicentre cohort study. *Lancet Neurol.* 2019;18(1):35-45
- ¹⁰⁵ Cioni G, Castellacci AM, Development of fetal and neonatal motor activity: implications for neurology, in *Sensory-motor organizations and development in infancy and early childhood*, pp135-144.
- ¹⁰⁶ Cioni G, Ferrari F, Prechtl HFR, Posture and spontaneous motility in fullterm infant, *Early Hum Dev* 7:247-262
- ¹⁰⁷ Haataja L, Mercuri E, Dubowitz V, Dubowitz L, Optimality score for the neurologic examination of the infant at 12 and 18 months of age, *J Pediatr* 135:153-161
- ¹⁰⁸ Bayley N, Bayley Scales of infant development, 2nd edn, S Antonio: the psychological corporation (BSID-II).

-
- ¹⁰⁹ Natarajan G, Pappas A, Shankaran S. Outcomes in childhood following therapeutic hypothermia for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). *Semin Perinatol*. 2016 Dec;40(8):549-555. doi: 10.1053/j.semperi.2016.09.007. Epub 2016 Nov 15. PMID: 27863707; PMCID: PMC5370563
- ¹¹⁰ American Academy of Pediatrics, Follow-up Care of High-Risk Infants, PEDIATRICS 2004;114;1377-1379. The Infant Follow-up Project. Extremely-Low-Birth-Weight Infant Birth Year 2012 Cohort.
- ¹¹¹ Eicher DJ, Wagner CL, Katikaneni LP, Hulsey TC, Bass WT, Kaufman DA, Horgan MJ, Languani S, Bhatia JJ, Givelichian LM, Sankaran K, Yager JY. Moderate hypothermia in neonatal encephalopathy: efficacy outcomes. *Pediatr Neurol*. 2005 Jan;32(1):11-7. doi: 10.1016/j.pediatrneurol.2004.06.014. PMID: 15607598.
- ¹¹² Natarajan G, Pappas A, Shankaran S, Laptook AR, Walsh M, McDonald SA, Ehrenkranz RA, Tyson JE, Goldberg RN, Bara R, Higgins RD, Das A, Munoz B. Effect of inborn vs. outborn delivery on neurodevelopmental outcomes in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy: secondary analyses of the NICHD whole-body cooling trial. *Pediatr Res*. 2012 Oct;72(4):414-9. doi: 10.1038/pr.2012.103. Epub 2012 Jul 25. PMID: 22914450; PMCID: PMC3730811.
- ¹¹³ Wassink G, Lear CA, Gunn KC, Dean JM, Bennet L, Gunn AJ. Analgesics, sedatives, anticonvulsant drugs, and the cooled brain. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2015 Apr;20(2):109-14. doi: 10.1016/j.siny.2014.10.003. Epub 2014 Nov 1. PMID: 25457080.
- ¹¹⁴ Baron IS, Leonberger KA. Assessment of intelligence in the preschool period. *Neuropsychol Rev*. 2012 Dec;22(4):334-44.
- ¹¹⁵ Shankaran S, Laptook AR, Ehrenkranz RA, Tyson JE, McDonald SA, Donovan EF, Fanaroff AA, Poole WK, Wright LL, Higgins RD, Finer NN, Carlo WA, Duara S, Oh W, Cotten CM, Stevenson DK, Stoll BJ, Lemons JA, Guillet R, Jobe AH; National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Whole-body hypothermia for neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy. *N Engl J Med*. 2005 Oct 13;353(15):1574-84. doi: 10.1056/NEJMcps050929. PMID: 16221780.
- ¹¹⁶ Azzopardi DV, Strohm B, Edwards AD, Dyet L, Halliday HL, Juszczak E, Kapellou O, Levene M, Marlow N, Porter E, Thoresen M, Whitelaw A, Brocklehurst P; TOBY Study Group. Moderate hypothermia to treat perinatal asphyxial encephalopathy. *N Engl J Med*. 2009 Oct 1;361(14):1349-58. doi: 10.1056/NEJMoA0900854. Erratum in: *N Engl J Med*. 2010 Mar 18;362(11):1056. PMID: 19797281.
- ¹¹⁷ Dilena R, Raviglione F, Cantalupo G, Cordelli DM, De Liso P, Di Capua M, Falsaperla R, Ferrari F, Fumagalli M, Lori S, Suppiej A, Tadini L, Dalla Bernardina B, Mastrangelo M, Pisani F; INNESCO Group. Consensus protocol for EEG and amplitude-integrated EEG assessment and monitoring in neonates. *Clin Neurophysiol*. 2021 Apr;132(4):886-903. doi: 10.1016/j.clinph.2021.01.012. Epub 2021 Feb 3. PMID: 33684728.
- ¹¹⁸ Ristovska S, Stomnaroska O, Danilovski D. Hypoxic Ischemic Encephalopathy (HIE) in Term and Preterm Infants. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*. 2022 Apr 22;43(1):77-84. doi: 10.2478/prilozi-2022-0013. PMID: 35451288.

¹¹⁹ Task Force sul Follow-up del neonate pretermine, Il Follow-up del Neonato Pretermine I primi sei anni di vita. Società Italiana di Neonatologia, 2022.

¹²⁰ Gadian DG, Aicardi J, Watkins KE et al. Developmental amnesia associated with early hypoxic-ischaemic injury. *Brain* 2000; 123: 499-507

¹²¹ van Laerhoven H, de Haan TR, Offringa M, Post B, van der Lee JH. Prognostic tests in term neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a systematic review. *Pediatrics*. 2013 Jan;131(1):88-98. doi: 10.1542/peds.2012-1297. Epub 2012 Dec 17. PMID: 23248219.