

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL
BAMBINO

Direttore: Prof. Eugenio Baraldi

U.O.C. Patologia Neonatale e Terapia Intensiva Neonatale

Direttore: Prof. Eugenio Baraldi

TESI DI LAUREA

“RICERCA DI MARCATORI PER LA VALUTAZIONE ED IL
MIGLIORAMENTO DELLA CRESCITA E DELLO STATO
OSSEO NEL NEONATO PRETERMINE CON O SENZA IUGR”

RELATORE: Ch.mo prof. EUGENIO BARALDI
CORRELATORI: Dott.ssa GIOVANNA VERLATO
Dott.ssa MARTA MENEGHELLI

Laureando: PERUZZO ANDREA

Anno Accademico: 2022/2023

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Il neonato pretermine	5
1.2 Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR)	7
1.2.1 Definizione e classificazione	7
1.2.2 Eziopatogenesi	9
1.2.3 Screening e diagnosi	11
1.2.4 Outcome patologici	13
1.2.5 Stato osseo nel bambino pretermine e IUGR	19
1.3 Il ritardo di crescita extrauterino (EUGR)	30
1.4 Nutrizione del bambino prematuro	33
1.4.1 Tipi di alimentazione e modalità di somministrazione	33
1.4.2 Richieste nutrizionali del prematuro	36
1.5 Metabolomica in neonatologia	39
2. SCOPO DELLO STUDIO	43
3. MATERIALI E METODI	44
3.1 Caratteristiche del campione	44
3.2 Nutrizione parenterale (NPT)	47
3.3 Nutrizione enterale (NE)	47
3.4 Misure antropometriche	48
3.5 Esami biochimici	49
3.6 Ultrasonografia ossea quantitativa (QUS)	50
3.7 Metabolomica	51
3.8 Statistica	53
4. RISULTATI	54
4.1 Analisi descrittiva della popolazione	54
4.2 Stato osseo e correlazione con parametri clinici	63
4.3 Fattori associati a buona o cattiva crescita del prematuro	71
4.4 Differenze nel profilo metabolomico di IUGR e non IUGR	78
5. DISCUSSIONE	82
6. CONCLUSIONI	94
BIBLIOGRAFIA	96

ABBREVIAZIONI

AGA:	adequate for gestational age
ALP:	fosfatasi alcalina
BMD:	densità minerale ossea
BMI:	indice di massa corporea
BPD:	displasia broncopolmonare
BTT:	bone transmission time
CRIB:	clinical risk index for babies
DEXA:	dual energy X-ray absorptiometry
DS:	deviazione standard
ELBW:	extremely low birth weight
EOS:	sepsi ad insorgenza precoce
EUGR:	extrauterine growth restriction
FEF:	full enteral feeding
FGR:	fetal growth restriction
IUGR:	ritardo di crescita intrauterino
LBW:	low birth weight
LOS:	sepsi ad insorgenza tardiva
m/z:	rapporto massa-carica
MANOVA:	multivariate analysis of variance
MBD:	metabolic bone disease
mcBTT:	metacarpal bone transmission time
mcSOS:	metacarpal speed of sound
MEF:	minimal enteral feeding
NE:	nutrizione enterale
NEC:	enterocolite necrotizzante
NPE:	energia non proteica
NPT:	nutrizione parenterale
PC:	peso corporeo
PDA:	pervietà del dotto di Botallo
PI:	pulsatility index
PLS-DA:	partial least squares discriminant analysis

QUS:	ultrasonografia quantitativa
RDS:	sindrome da distress respiratorio
RMN:	risonanza magnetica nucleare
ROP:	retinopatia della prematurità
SBE:	eccesso di basi standard
SG:	settimana/e gestazionale/i
SGA:	small for gestational age
SM:	spettrometria di massa
SOS:	speed of sound
TRP:	riassorbimento tubulare di fosforo
VLBW:	very low birth weight

RIASSUNTO

Background: Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) è una condizione ostetrica in cui il feto non raggiunge il proprio potenziale di crescita. Dopo la nascita è causa di maggiore morbilità e mortalità del bambino, con possibili conseguenze sulla salute anche in età adulta. Pochi studi hanno indagato lo stato osseo dei neonati IUGR, ma è descritta un'associazione tra basso peso alla nascita ed aumentato rischio di sviluppare malattia metabolica dell'osso della prematurità. Un adeguato supporto nutrizionale favorisce la crescita e lo sviluppo dei bambini prematuri, e lo studio metabolomico dei neonati pone le basi per una gestione personalizzata del paziente.

Scopo dello studio: L'obiettivo dello studio è identificare i parametri clinici, biochimici e nutrizionali associati a IUGR alla nascita e ricercare le variabili associate a peggiore crescita e stato osseo dei neonati in studio. Tramite analisi su urine raccolte alla nascita, abbiamo inoltre valutato se il profilo metabolomico potesse discriminare i bambini IUGR dai non IUGR.

Materiali e metodi: Sono stati reclutati 354 bambini prematuri (≤ 32 SG) nati tra gennaio 2019 e maggio 2023 e ricoverati presso i reparti di Terapia Intensiva Neonatale e di Patologia Neonatale dell'Azienda Ospedaliera di Padova, con avvio di nutrizione parenterale (NPT) entro le prime 72 ore di vita. Settantacinque neonati IUGR sono stati accoppiati con altrettanti neonati non IUGR. Dalla nascita alla dimissione sono stati raccolti a intervalli regolari i parametri clinici, biochimici e nutrizionali dei pazienti. Per la valutazione dello stato osseo dei neonati si è studiato il Bone Transmission Time (BTT, μ s) alla nascita, a 21 giorni e a 36 settimane gestazionali (SG) tramite ultrasonografia quantitativa del secondo osso metacarpale. In un sottogruppo di 70 pazienti si sono valutati i parametri antropometrici e ultrasonografici anche ad un anno di età. In 34 bambini sono state eseguite indagini metabolomiche su urine raccolte entro le prime 72 ore di vita. I dati raccolti sono stati inseriti in un database Microsoft Office Excel 2013® e analizzati dal software NCS 9.0. I dati (media \pm DS) sono stati confrontati nei due gruppi con test T di Student a due code per variabili indipendenti; le correlazioni con lo stato osseo sono state valutate tramite coefficiente di Pearson. Per lo studio delle variabili qualitative si è utilizzato il test Chi-Quadrato. La significatività è definita da un valore $p < 0,05$.

Risultati: I bambini IUGR hanno presentato parametri antropometrici inferiori fino alle 36 SG e ridotto peso a 1 anno di età, e uno stato osseo peggiore (mcBTT inferiore) alla nascita e a 21 giorni. I neonati IUGR hanno ricevuto minori apporti energetici e NPT per più giorni, hanno inoltre impiegato più tempo a raggiungere 150 ml/Kg/die di nutrizione enterale (NE) e sono rimasti a digiuno più a lungo. Gli IUGR hanno presentato concentrazioni ematiche di urea e di fosfato inferiori alla nascita e nelle successive determinazioni e più episodi di ipertrigliceridemia durante il ricovero. Lo stato osseo nell'intera popolazione correla positivamente con i parametri antropometrici, specialmente con la lunghezza della tibia, dalla nascita alle 36 SG. Introiti energetici superiori a 76,9 Kcal/Kg/die nella prima settimana e superiori a 105,6 Kcal/Kg/die nel primo mese si associano a migliore BTT a 36 SG mentre il BTT, in tutte le determinazioni, correla negativamente con la durata della NPT ed il tempo impiegato per raggiungere la NE esclusiva. Lo stato osseo correla positivamente con l'intake di vitamina D e con la fosforemia alla nascita e a 21 giorni di vita; correla invece negativamente con i giorni di ventilazione meccanica invasiva e, nei bambini non IUGR, con l'utilizzo di Fentanest. Nel campione di bambini accoppiati il 98% degli IUGR e il 69% dei non IUGR presentava ritardo di crescita a 36 SG (EUGR). Nella popolazione generale i fattori associati a peggiore crescita ponderale sono stati i ridotti parametri antropometrici alla nascita, il minimo peso raggiunto, gli scarsi apporti energetici e proteici, il maggior numero di giorni di NPT e per raggiungere 150 ml/Kg/die di NE e i bassi livelli ematici di fosforo basale e a 7 giorni di vita. Simili risultati si sono ottenuti nella ricerca di fattori associati a cattiva crescita nei bambini IUGR. L'analisi metabolomica alla nascita negli IUGR ha identificato delle specifiche differenze in alcune vie metaboliche, tra le quali il metabolismo di triptofano e istidina e la sintesi di ormoni steroidei.

Conclusioni: Lo stato osseo è peggiore nei bambini IUGR e correla negativamente con la fosforemia, che già alla nascita si presenta inferiore nella popolazione IUGR. La crescita e lo stato osseo sono influenzati dagli apporti nutrizionali, come gli intake calorici nelle prime settimane di vita, e dalla modalità di somministrazione dei nutrienti; una maggiore attenzione nell'alimentazione del neonato prematuro potrebbe tradursi in migliori outcome nel breve e nel lungo termine. Gli studi metabolomici potrebbero contribuire ad una migliore gestione di questi bambini tramite l'introduzione di nutrizione e terapie personalizzate.

ABSTRACT

Background: Intrauterine growth restriction (IUGR) is an obstetrical condition in which the fetus does not reach its full growth potential. After birth it increases the morbidity and mortality rate in children, with possible consequences on health even in adulthood. Few studies have investigated the bone status of IUGR infants, but an association between low birth weight and an increased risk of developing metabolic bone disease of prematurity has been described. Adequate nutritional support favors the growth and the development of premature babies, and the metabolomic study of newborns lays the foundations for personalized patient management.

Objective: The aim of the study is to identify the clinical, biochemical and nutritional parameters associated with IUGR at birth and to search for the variables associated with worse growth and bone status of the studied infants. Through the analysis of urine collected at birth we also evaluated whether the metabolomic profile could discriminate between IUGR and non-IUGR children.

Study Design: 354 premature infants (≤ 32 GA) born between January 2019 and May 2023 and admitted to the Neonatal Intensive Care and Neonatal Pathology Units in Padua Hospital were recruited, starting with parenteral nutrition (NPT) within the first 72 hours of life. Seventy-five IUGR infants were matched with seventy-five non-IUGR infants. From birth to discharge, the patients' clinical, biochemical and nutritional parameters were collected at regular intervals. For the evaluation of the bone status in newborns, the Bone Transmission Time (BTT, μs) was studied at birth, at 21 days and at 36 weeks of gestational age (GA) by means of quantitative ultrasonography of the second metacarpal bone. Antropometric and ultrasonographic parameters were evaluated in a subgroup of 70 patients even at one year of age. In 34 children, metabolomic investigations were performed on urine samples collected within the first 72 hours of life. The data collected was entered into a Microsoft Office Excel 2013® database and analyzed by the NCSST 9.0 software. Data (mean \pm SD) were compared in the two groups with two-tailed Student's T test for independent variables; correlations with bone status were evaluated using Pearson's coefficient. The Chi-Square test was used to study the qualitative variables. Significance is defined as a p value < 0.05 .

Results: IUGR children had lower anthropometric parameters up to 36 GA and reduced weight at 1 year of age, and had worse bone status (lower mcBTT) at birth and at 21 days. IUGR infants received lower energy intakes and NPT for more days, took longer to reach 150 ml/kg/day of enteral nutrition (EN), and fasted longer. IUGRs had lower blood urea and phosphate concentrations at birth and subsequent determinations, and more episodes of hypertriglyceridemia during hospitalization. The bone status, in the whole population, positively correlates with anthropometric parameters, especially with tibia length, from birth to 36 GA. Energy intakes greater than 76.9 Kcal/Kg/day in the first week and greater than 105.6 Kcal/Kg/day in the first month are associated with a better BTT at 36 GA while BTT, in all determinations, negatively correlates with the duration of the NPT and the time taken to reach the exclusive EN. Bone status correlates positively with vitamin D intake and blood phosphorus at birth and at 21 days of life; instead, it correlates negatively with the days of invasive mechanical ventilation and, in non-IUGR children, with the use of Fentanest. In the sample of matched children, 98% of IUGR and 69% of non-IUGR had growth retardation at 36 GA (EUGR). In the entire population, the factors associated with worse weight gain were the reduced anthropometric parameters at birth, the minimum weight reached, the low energy and protein intakes, the greater number of days on NPT and to reach 150 ml/Kg/day of EN and the low blood levels of phosphorus at baseline and at 7 days of life. Similar results were obtained searching for factors associated with growth failure in IUGR children. Metabolomics analysis at birth performed in IUGR children identified specific differences in some metabolic pathways, including tryptophan and histidine metabolism and steroid hormone synthesis.

Conclusions: Bone status is worse in IUGR children and correlates negatively with blood phosphorus, which is already lower at baseline in the IUGR population. Growth and bone status are influenced by nutritional intakes, such as caloric intake in the first weeks of life, and by the way nutrients are administered; greater attention in feeding the premature infant could translate into better outcomes in the short and long term. Metabolomics studies could lead to better management of these children through the introduction of personalized nutrition and therapies.

1. INTRODUZIONE

1.1 Il neonato pretermine

Il periodo neonatale comincia al momento della nascita e termina dopo 28 giorni. Secondo la definizione dell'OMS, il neonato pretermine è il bambino nato vivo prima delle 37 settimane di gestazione, che corrispondono ai 259 giorni trascorsi dal primo giorno dell'ultimo ciclo mestruale della madre. I bambini prematuri vengono ulteriormente classificati in quattro sottogruppi, in funzione dell'età gestazionale al momento della nascita: estremamente pretermine prima delle 28 settimane, molto pretermine tra le 28 e le 32 settimane, moderatamente pretermine tra le 32 e le 34 settimane e tardi pretermine tra le 34 e le 37 settimane. Sulla base del peso alla nascita si suddividono i neonati in *low birth weight* (LBW) se il peso è compreso tra 1500 g e 2500 g, *very low birth weight* (VLBW) se tra 1000 g e 1500 g, *extremely low birth weight* (ELBW) se inferiore a 1000 g (1,2).

Si stima che ogni anno nel mondo avvengano prematuramente più di 13 milioni di nascite, pari al 10% delle nascite totali (1). In Italia la percentuale di parti pretermine è ridotta rispetto alla media globale e stimata circa al 6,4%, con una maggioranza pari al 75% di bambini *late-preterm* (3). Nonostante la riduzione delle nascite premature su scala mondiale nell'ultimo trentennio (da 16,06 milioni nel 1990 a 15,22 milioni nel 2019) grazie al perfezionamento delle cure mediche e al miglioramento generale delle condizioni di vita, sia Paesi a basso reddito sia alcuni Paesi ad alto reddito hanno visto nel corso degli anni un aumento del trend. Nei Paesi ad alto reddito tale aumento potrebbe essere legato ad un aumento delle gravidanze multiple, ad un aumento dell'età media della madre durante la gravidanza, all'utilizzo di tecniche di riproduzione assistita e all'incremento di alcune pratiche cliniche, come l'induzione del parto o il parto cesareo elettivi prima delle 37 settimane di gestazione (4).

I parti prematuri rappresentano un'importante sfida in termini di complicanze, sia precoci che tardive, e di conseguente mortalità. Le complicanze da prematurità causano ogni anno un milione di morti tra i bambini di tutto il mondo, imponendosi come principali cause di mortalità infantile sotto i 5 anni (5). La tendenza è in netto miglioramento rispetto ai decenni precedenti, con un dimezzamento della mortalità per nascita pretermine dal 1990 al 2019, ma molti

sforzi e investimenti possono ancora essere messi in atto per aumentare la sopravvivenza dei bambini pretermine, soprattutto nei Paesi in via di sviluppo (4,5).

L'eziologia del parto pretermine è spesso complessa e multifattoriale, rimanendo incerta nella maggior parte dei casi; sono tuttavia descritti in letteratura numerosi fattori di rischio materni e legati alla storia ostetrica della paziente (6).

Nascere pretermine comporta un importante stress per il neonato, che spesso si ritrova ad affrontare la realtà del mondo extrauterino senza aver portato a compimento lo sviluppo dei vari sistemi ed apparati, soprattutto se *early preterm*. Sono numerose le complicanze precoci che si possono riscontrare nel bambino prematuro, alcune delle quali rappresentano delle vere e proprie sfide per la sua sopravvivenza. Infezioni, sindrome da distress respiratorio, displasia broncopolmonare, enterocolite necrotizzante, ittero, retinopatia della prematurità, emorragia intraventricolare e leucomalacia periventricolare sono alcune tra le principali patologie acute del neonato prematuro (7,8). Molte di queste comportano conseguenze nel lungo termine sulla salute, sulla crescita e sullo sviluppo del bambino. Numerose evidenze scientifiche associano la prematurità a disturbi del neurosviluppo: paralisi cerebrale, alterazioni della vista e dell'udito, epilessia, deficit cognitivo, disturbi del linguaggio e dell'apprendimento, disprassia, disturbo da deficit di attenzione/iperattività (ADHD), difficoltà socio-emozionali e comportamentali (8). Il bambino pretermine presenta inoltre un aumentato rischio di riospedalizzazione e un'aumentata esigenza di cure ambulatoriali nei primi anni di vita rispetto al nato a termine, principalmente per le complicanze stesse della prematurità e le infezioni respiratorie (8).

La cura dei neonati pretermine richiede un approccio multidisciplinare che coinvolge neonatologi, dietisti, chirurghi, infermieri ed altri professionisti sanitari, per garantire la migliore crescita del bambino e il minor rischio di complicanze. La prevenzione e la gestione del parto pretermine sono una grande sfida per la salute pubblica ed ulteriori studi sono necessari per delineare interventi efficaci su larga scala, soprattutto nei Paesi con scarsità di risorse (9,10).

1.2 Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR)

1.2.1 Definizione e classificazione

Il ritardo di crescita intrauterino (IUGR) è una condizione ostetrica in cui il feto ha un tasso di crescita inferiore rispetto al suo potenziale, specifico sulla base di etnia, genere e altre caratteristiche proprie del bambino (11). La definizione, tuttavia, così come la diagnosi e la gestione di tale condizione, ha generato nel corso degli anni controversie nella comunità scientifica, data la difficoltà nel determinare in maniera univoca l'effettivo potenziale di crescita del feto. È importante innanzitutto distinguere la definizione di IUGR da quella di *Small for Gestational Age* (SGA), spesso erroneamente riportati come sinonimi sia in letteratura sia nella pratica clinica. La FIGO (Federazione Internazionale di Ginecologia e Ostetricia) utilizza l'espressione SGA per indicare un peso fetale stimato o un peso alla nascita inferiore al 10° percentile rispetto a quanto atteso per una determinata età gestazionale, e IUGR per definire un feto che non ha raggiunto il suo potenziale di crescita a causa di un processo patologico, spesso di origine placentare (12). La differenza sostanziale tra le due condizioni è che il feto SGA nella maggior parte dei casi è piccolo per motivi fisiologici e costituzionali, e quindi sano e a minor rischio di sviluppare outcome perinatali anomali, mentre il ritardo di crescita intrauterino sottende sempre un meccanismo patologico (13). Inoltre un feto IUGR non è necessariamente SGA, perché può avere un peso maggiore del 10° percentile senza aver raggiunto la propria crescita potenziale, ed essere comunque a rischio di outcome avversi (14). Uno studio condotto nel 2016 ha tentato di dare una definizione chiara di IUGR in assenza di anomalie congenite, basandosi sul parere degli esperti. L'*early fetal growth restriction* (FGR, usato come sinonimo di IUGR) si presenta per definizione prima delle 32 SG e, secondo lo studio sopracitato, andrebbe considerata in caso di:

1. circonferenza addominale fetale o peso fetale stimato inferiore al 3° percentile o flusso di fine diastole assente a livello dell'arteria ombelicale, oppure
2. circonferenza addominale fetale o peso fetale stimato inferiore al 10° percentile in associazione a PI (pulsatility index, parametro indicativo del flusso in sistole e diastole in un vaso calcolato tramite ecografia) delle

arterie uterine superiore al 95° percentile e/o a PI dell'arteria ombelicale superiore al 95° percentile.

Si potrà invece diagnosticare una *late fetal growth restriction* dopo le 32 settimane di gestazione, sempre secondo la parola degli esperti, in caso di:

1. circonferenza addominale fetale o peso fetale stimato inferiore al 3° percentile, oppure
2. almeno due tra:
 - a. circonferenza addominale fetale o peso fetale stimato inferiore al 10° percentile;
 - b. riduzione del percentile di circonferenza addominale fetale o di peso fetale stimato di più di due quartili;
 - c. cerebroplacental-ratio (PI dell'arteria cerebrale media diviso PI dell'arteria ombelicale) inferiore al 5° percentile o PI dell'arteria ombelicale superiore al 95° percentile (15).

Early- e *late-onset* IUGR sono considerate entità distinte per le peculiarità che caratterizzano la condizione prima e dopo le 32 settimane gestazionali. L'*early-onset* è meno frequente e maggiormente associata ad anomalie placentari e a pre-eclampsia, con peggiori outcomes sia in termini di mortalità che in termini di morbilità perinatali rispetto alla *late-onset* (16). Le più evidenti alterazioni flussimetriche alle ecografie di controllo rendono più semplice la diagnosi della IUGR a insorgenza precoce, ma la gestione, a causa delle complicanze, risulta più complessa rispetto alle forme tardive (16). Un'ulteriore classificazione distingue due forme di IUGR in funzione delle caratteristiche antropometriche misurate nel feto in epoca prenatale: la IUGR simmetrica si manifesta precocemente durante la gravidanza con una riduzione proporzionale del diametro biparietale, della circonferenza cranica e addominale, e della lunghezza del femore (17); la IUGR asimmetrica si manifesta più tardivamente, con una riduzione della circonferenza addominale legata ad una rallentata crescita epatica e ad una riduzione del grasso sottocutaneo, e un risparmio degli altri parametri auxologici (17). La forma simmetrica è generalmente legata a disordini genetici o ad infezioni intrauterine con ipoplasia fetale, mentre la forma asimmetrica è più frequentemente associata ad insufficienza utero-placentare con ipotrofia delle cellule fetali (18). È stata inoltre introdotta la denominazione “*mixed* IUGR” per definire i feti IUGR con

caratteristiche di crescita intermedie tra la forma simmetrica e quella asimmetrica, con cellule ridotte sia in numero che in dimensione, a causa di disturbi placentari occorsi a fine gravidanza in un feto IUGR simmetrico (18).

1.2.2 Eziopatogenesi

Le cause e i fattori di rischio associati a IUGR sono molteplici, e si possono raggruppare in materni, placentari e fetali. È importante sottolineare come tali fattori non necessariamente agiscano singolarmente, ma possano essere associati e contribuire in varia misura allo sviluppo della patologia. Inoltre, la presenza di molti di questi, in assenza di alterazioni auxologiche del feto valutate all'ecografia, non sono motivo di preoccupazione e non richiedono indagini più approfondite (19).

Età estreme della madre in gravidanza e etnia nera sono associate a un maggior rischio di IUGR (20–22). Anche vivere in un Paese in via di sviluppo e in basse condizioni socioeconomiche sono fattori di rischio per il ritardo di crescita fetale, coerentemente con l'aumentato abuso di sostanze e la più elevata incidenza di malnutrizione (essi stessi elementi causali di IUGR) in queste popolazioni (23,24). Un'accurata anamnesi ostetrica è importante nella madre di un feto con alterata crescita intrauterina perché permette di individuare fattori predisponenti come una IUGR in una pregressa gravidanza (25), il ricorso a tecnologie di procreazione medicalmente assistita (26), un breve intervallo trascorso tra l'attuale ed un'eventuale precedente gravidanza (27) ed un basso peso pre-gravidico o un basso incremento ponderale durante la gestazione (28). Più in generale l'anamnesi materna potrebbe rilevare l'esposizione a sostanze in grado di alterare la crescita del feto, ad esempio il fumo di sigaretta, l'alcol, alcuni stupefacenti come cocaina e marijuana, e alcuni tossici tra cui farmaci come steroidi, warfarin e fenitoina (29,30). In particolare, l'associazione tra esposizione a fumo di sigaretta, anche passivo (31), e FGR è confermata da numerosi studi in letteratura. La crescita del feto risulta alterata soprattutto se l'esposizione al fumo avviene tardivamente nel corso della gravidanza, determinando una *late-onset* IUGR (32), mentre la riduzione o l'interruzione dell'esposizione, in particolare nel primo trimestre, riduce notevolmente il rischio di sviluppare la patologia (33). Alla base di tale associazione si riscontra la condizione di ipossia cronica del feto, che risulta in una deviazione del flusso sanguigno verso l'encefalo, e la presenza di sostanze

tossiche nel tabacco in grado di alterare la funzionalità placentare o di attraversare la barriera ematoplacentare, come la nicotina ed il cadmio (34). Molte patologie croniche della madre o sviluppate durante la gravidanza si traducono in un aumentato rischio di IUGR, a causa del ridotto flusso ematico utero-placentofetale; tra queste si ricordano la pre-eclampsia, l'ipertensione, il diabete associato a vasculopatia, l'insufficienza renale cronica, il lupus eritematoso sistemico e la sindrome da anticorpi antifosfolipidi (11). Anche modificazioni nel trasporto di ossigeno dovuti ad anemia o a gravidanze condotte ad alta quota possono provocare nel feto modificazioni che si traducono in ritardo di crescita intrauterino (35,36). Più del 5% dei casi di FGR è da ricondurre a infezioni materne, principalmente a rosolia, CMV, HSV, HIV, Zika, toxoplasmosi e malaria, le quali agiscono riducendo la popolazione cellulare fetale (12).

La corretta crescita del feto durante la gravidanza è garantita da un adeguato trasporto di sostanze nutritive attraverso la placenta, motivo per cui una compromissione dei meccanismi di trasporto utero-placentofetali può esitare in una IUGR. Eventuali anomalie nelle prime fasi della placentazione possono determinare importanti conseguenze per il feto, come FGR, che si esplicano soprattutto a partire dalla fine del primo trimestre di gravidanza, quando si sta concludendo la formazione della placenta definitiva. Un carente rimodellamento delle arterie spirali uterine nelle prime fasi della gravidanza è associato a malperfusion placentare, con induzione di stress cellulare nei tessuti placentari e disfunzione dello scambio materno-fetale e delle funzioni endocrine, metaboliche e immunitarie del feto. Modificazioni morfologiche della placenta correlano con IUGR, di aumentata severità se in associazione a pre-eclampsia, indicativa di un importante grado di vasculopatia nella madre (37). Tra le anomalie vascolari macroscopiche correlate con ritardo di crescita fetale si riscontrano trombosi intervillosa o subcoriale massiva, infarto con necrosi correlata ad ostruzione delle arterie uteroplacentari e infarto del piatto materno, entità caratterizzata dal deposito di materiale fibrinoide lungo il piatto materno, necrosi ischemica dei villi e trombosi arteriosa (37). Tra le anomalie microscopiche alla base di FGR sono stati invece descritti difetti di sviluppo dei villi da ridotta perfusione dello spazio intervilloso, aterosclerosi delle arterie spirali e villiti non-infettive, o di eziologia sconosciuta, secondarie allo stress ossidativo determinato da ischemia-riperfusione dello spazio intervilloso (37). Anche infezioni della placenta, come la

malaria, si associano ad un alterato rimodellamento dei vasi placentari, potendo esitare in IUGR (38). Si è inoltre evidenziata nelle gravidanze associate a IUGR un'aumentata incidenza di mosaicismo confinato alla placenta, alterazione cromosomica che interessa selettivamente la placenta, e quindi non il feto (39).

Anomalie cromosomiche sono riscontrate circa nel 19% dei feti IUGR, tra cui le più frequenti risultano essere la triploidia e la trisomia 18 rispettivamente prima e dopo le 26 settimane gestazionali (40). Oltre alle aneuploidie, anche delezioni autosomiche e disomie uniparentali sono associate ad aumentato rischio di FGR, così come alcune malattie genetiche sindromiche rare quali la sindrome di Cornelia de Lange, la sindrome di Russel-Silver e la sindrome di Roberts (41). Anomalie strutturali congenite del feto si associano a IUGR anche in assenza di anomalie genetiche sottostanti, con un aumento del rischio proporzionale al numero di difetti congeniti del feto (42). Oltre alle già citate infezioni materno-fetali, sono rilevanti cause di ritardo di crescita intrauterino anche eventuali disordini endocrino-metabolici del feto, tra cui l'agenesia del pancreas o l'assenza congenita delle isole del Langerhans, l'ipofosfatasia e la fenilchetonuria fetale. L'assenza di secrezione insulinica in caso di agenesia pancreatica del feto conduce ad una condizione di iperglicemia fetale che si traduce in un riduzione del trasporto di glucosio dalla madre al feto, portando a FGR. Una carenza di IGF-1, fattore di crescita implicato nel trasporto di glucosio e amminoacidi attraverso la placenta, è anch'essa associata ad un aumentato rischio di IUGR. Inoltre, condizioni di ipotiroidismo possono essere causa di ridotta crescita fetale intrauterina (11). Gravidanze multiple si associano ad un aumentato rischio di FGR di uno o entrambi i gemelli, con maggiore incidenza nelle monocorioniche rispetto alle bicorioniche (43).

In letteratura sono infine descritti numerosi polimorfismi di geni materni, placentari e fetali codificanti per proteine ed ormoni, che se presenti sono correlati a ridotta crescita del feto (44).

1.2.3 Screening e diagnosi

La crescita intrauterina è un processo dinamico che richiede una ripetuta valutazione del feto nel corso della gestazione. Per differenziare la condizione di SGA da quella di IUGR sono state proposte diverse metodiche, come la valutazione della velocità di crescita del feto, l'uso di grafici di crescita

personalizzati, la valutazione flussimetrica della circolazione placentare e fetale tramite Doppler e l'utilizzo di biomarcatori (45).

I principali parametri biometrici studiati tramite ecografia durante la gravidanza sono circonferenza cranica, diametro biparietale, circonferenza addominale e lunghezza del femore. A partire da questi valori è possibile, tramite formule matematiche, determinare il peso fetale stimato (46). La deviazione di tali parametri dalla norma, espressa come variazione percentile o come numero di deviazioni standard rispetto alla media nella popolazione generale (Z-score), può essere determinata sulla base dei grafici di crescita fetale. Bassi valori di circonferenza addominale e di peso fetale stimato, o una loro importante deviazione (maggiore di 2 quartili) da quella che è la loro traiettoria di crescita, possono essere considerati parametri diagnostici di ritardo di crescita fetale (15). Per una migliore identificazione dei feti SGA e IUGR, sono stati realizzati grafici di crescita personalizzati, in cui il peso e la crescita del feto sono aggiustati in funzione di parametri che possono impattare sulle dimensioni fetali, quali altezza, peso, età ed etnia della madre (46).

La flussimetria dell'arteria ombelicale e delle arterie uterine con Doppler consente di analizzare la funzione del circolo uteroplacentare, mentre la flussimetria di arteria cerebrale media e del dotto venoso suggerisce l'eventuale presenza di anomalie nella funzione cardiovascolare e nell'ossigenazione del feto. Il pulsatility index (PI) è un indice che esprime il rapporto tra flusso sistolico e diastolico in un vaso, ed è proporzionale alle resistenze presenti in tale distretto (47). PI alti misurati nelle arterie uterine o nell'arteria ombelicale sono indicativi di malperfusione ed insufficienza placentare; di particolare rischio è la presenza di flusso diastolico invertito nell'arteria ombelicale, associata ad elevata mortalità intrauterina (48,49). Una riduzione del PI nell'arteria cerebrale media, segno di vasodilatazione, rappresenta la redistribuzione di sangue verso il sistema nervoso centrale messa in atto dal feto per far fronte a condizioni ipossiemiche (50). Allo stesso modo, un appiattimento o un'inversione dell'onda a, cioè la parte finale del flusso, a livello del dotto venoso, sono rappresentativi di un'aumentata richiesta cardiaca a seguito di uno scompenso fetale ipossiemico (51). Per tali motivi la flussimetria si presta ad essere uno strumento di fondamentale utilità nella definizione di un ritardo di crescita intrauterino.

Il Biophysical Profile Scoring” (BPP) è uno score che predice il pH e l’outcome fetale, mentre la cardiocografia computerizzata permette la valutazione dell’attività cardiaca, e quindi dell’attività simpatica e parasimpatica del feto. Entrambi sono utili non tanto per la diagnosi, quanto più per la sorveglianza del feto FGR. Più utili per la diagnosi e lo screening, sebbene non ancora implementati nella pratica clinica, sembrano essere alcuni biomarcatori placentari, come soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) e il fattore umano di crescita placentare (PlGF), il cui rapporto è alterato in condizioni di malperfusion e insufficienza placentare (45).

Secondo le attuali linee guida ISUOG (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology) la definizione di IUGR basata sull’opinione degli esperti e riportata nel capitolo 1.2.1 (15), è raccomandata per la diagnosi nella pratica clinica (45).

1.2.4 Outcome patologici

I bambini con ritardo di crescita intrauterina e SGA presentano un maggior rischio di mortalità e morbilità perinatale e neonatale rispetto ai bambini AGA (appropriate for gestational age) (52–54), ma anche in età evolutiva e adulta tali soggetti sono aggravati da più complicanze rispetto alla controparte sana.

La popolazione di feti con diagnosi di SGA presenta una più elevata mortalità intrauterina rispetto ai bambini AGA, con un aumento inversamente proporzionale al peso per età gestazionale (55). Lo stesso trend si riscontra anche durante il primo anno di vita, con maggior rischio di mortalità nei bambini nati ad un’età gestazionale e con un peso alla nascita inferiori (56). Tra i bambini prematuri è inoltre descritta una più forte associazione nella popolazione SGA rispetto alla popolazione non-SGA nell’insorgenza di sindrome da distress respiratorio (RDS), enterocolite necrotizzante (NEC), sepsi ad insorgenza tardiva (LOS), retinopatia della prematurità (ROP) e displasia broncopolmonare (BPD) (52,54,56). La NEC è frequente anche nei pazienti IUGR non prematuri, come conseguenza del dirottamento del flusso ematico agli organi nobili come l’encefalo in caso di ipossia durante la vita fetale (*brain sparing*), a scapito di organi come l’intestino che vanno così incontro ad ischemia (57). È infatti da sottolineare come non solo i bambini IUGR nati prematuri ma anche quelli nati a termine presentano maggiore morbilità rispetto alla popolazione neonatale generale. Già alla nascita il bambino

SGA nato dopo le 37 SG presenta una prognosi peggiore, con più frequente diagnosi di acidosi, indice di Apgar a cinque minuti ≤ 3 ed una più alta percentuale di ricoveri in reparti di terapia intensiva neonatale (53). I bambini IUGR nati a termine presentano inoltre, in epoca neonatale, una predisposizione a patologie quali: asfissia perinatale, legata ad una condizione di ipossia e potenzialmente associata a paralisi cerebrale (58); ipotermia (59), dovuta principalmente al disequilibrio tra l'ampia superficie corporea del neonato e lo scarso grasso corporeo e sottocutaneo, ma anche a disordini endocrino-metabolici come la deplezione di catecolamine o l'ipoglicemia che interferiscono sulla produzione di calore (60); ipo- o iperglicemia, la prima causata da una condizione di iperinsulinemia non accompagnata da un'adeguata risposta degli ormoni controregolatori come il glucagone (61), la seconda da deficit di produzione insulinica a livello delle cellule β pancreatiche o da parziale resistenza periferica all'insulina (62); ipocalcemia, secondaria a ridotto trasporto utero-placento-fetale in gravidanza, alterato metabolismo osseo, ridotto assorbimento calcico a livello intestinale o da cause più rare come ipoparatiroidismo da danno ischemico delle ghiandole paratiroidi (60); condizioni ematologiche come policitemia con viscosità ematica da aumento di eritropoietina in risposta ad ipossia cronica, e neutropenia, leucopenia ed immunodeficienza che facilitano lo sviluppo di infezioni anche severe (60). Ciascuna delle precedenti condizioni deve essere indagata tramite esami di screening o con esami specifici in caso di sospetto clinico e nell'eventualità di effettivo riscontro di malattia la gestione è personalizzata sulla base della complicità in atto.

Il ritardo di crescita intrauterino può influenzare la crescita del bambino più o meno severamente a seconda dell'entità della malattia. Karlberg e Albertsson-Wikland hanno seguito un consistente gruppo di bambini sani nati a termine, suddivisi in SGA e non-SGA, giungendo alla conclusione che più dell'86% dei neonati SGA raggiungeva un'altezza comparabile al gruppo di controllo già durante i primi 6-12 mesi di vita, mentre tra i pazienti SGA rimasti piccoli ad un anno solo la metà circa presentava un'altezza finale significativamente ridotta (63). La letteratura sembra concorde nell'affermare che la maggior parte dei bambini nati con ritardo di crescita intrauterino recuperi il deficit in altezza nei primi mesi dalla nascita, generalmente entro i due anni di età, con un mantenimento degli standard di altezza anche in età evolutiva ed adulta (64-66). I

pazienti più a rischio di bassa statura in età pediatrica o adulta sono i bambini con ritardo di crescita più severo, sia in termini di età gestazionale sia di peso alla nascita (67,68). Qualora il recupero della crescita avvenisse nei bambini più immaturi, ci si aspetterebbe comunque un recupero più lento, anche superiore ai 24 mesi di età, rispetto agli SGA nati a termine o con maggiore peso alla nascita (69). Una possibile correlazione tra ritardo di crescita intrauterino e ridotta statura in età adulta nelle donne è stata spiegata assumendo che le ragazze con pregressa diagnosi di SGA, in particolare se il loro recupero di crescita dopo la nascita avviene entro i primi mesi di vita, tendono ad iniziare la pubertà più precocemente, con conseguente ridotta crescita in altezza negli anni che la conseguono (70,71). Livelli sierici di GH, IGF-I e IGF-BP3 non si sono rivelati marcatori efficaci nel predire la crescita e la statura a due anni di età nei bambini IUGR (72). La somministrazione di GH a scopo terapeutico può essere considerata nei bambini SGA qualora a 2 anni non ci sia stato un adeguato recupero di crescita con altezza inferiore a 2,5 deviazioni standard rispetto alla popolazione generale di pari età, oppure inferiore a 2 deviazioni standard una volta trascorsi i 4 anni di età (73).

Le complicazioni a lungo termine negli IUGR e SGA non sono confinate all'alterazione dei parametri antropometrici, ma sono evidenti in età pediatrica o più avanzata anche compromissioni dell'apparato cardiovascolare, del sistema endocrino-metabolico, dello sviluppo neurocognitivo, della funzionalità polmonare, renale e della struttura e della composizione ossea (60). Il primo studio ad associare la malattia cronica dell'adulto a delle possibili influenze dell'ambiente intrauterino durante la vita fetale fu pubblicato nel 1986 da due ricercatori, Barker e Osmond, che avevano notato una forte relazione tra le morti per cardiopatia ischemica in alcune regioni di Inghilterra e Galles e la mortalità infantile negli stessi territori circa 50 anni prima (74). La teoria secondo cui stress materni durante la gravidanza, ed in particolare uno stato di malnutrizione con conseguente ridotta crescita del feto, possa comportare disturbi cronici nel bambino al raggiungimento della vita adulta, è stata studiata negli anni successivi da Barker, tanto da essere comunemente nota come ipotesi di Barker (o ipotesi delle origini evolutive della salute e della malattia dell'adulto). La teoria di Barker non rimase relegata alle conseguenze cardiovascolari del difetto di crescita prenatale, ma si ampliò ad altri ambiti, primo tra tutti quello endocrino-metabolico

(75). Diversi studi più o meno recenti si sono concentrati sull'associazione tra nascere FGR, SGA o con basso peso alla nascita e lo sviluppo di sindrome metabolica, con tutte le sue componenti (aumentata circonferenza della vita, ipertensione arteriosa, alterata glicemia a digiuno, insulino-resistenza, dislipidemia), o di diabete mellito di tipo 2 (DMT2) in età pediatrica o adulta. Ciò che emerge dalle evidenze degli ultimi anni è che un ruolo nello sviluppo di future patologie cardiometaboliche sembra essere ricoperto dalla nutrizione e dalla crescita ponderale post-natale e durante l'infanzia dei bambini nati con difetti di crescita o molto prematuri.

La relazione tra alterata crescita fetale e disturbi del metabolismo glucidico è nota da tempo. Wang et al. hanno misurato i livelli plasmatici di glucosio a digiuno, insulina e lipidi in 76 neonati SGA e 220 neonati AGA a 72 ore dalla nascita, rilevando una condizione di iperinsulinemia con aumentato rapporto insulina:glucosio nel primo gruppo, oltre a livelli aumentati di trigliceridi, colesterolo totale e colesterolo LDL (76). Nonostante in questo studio i due gruppi non differissero in termini di glicemia a digiuno, spesso i bambini SGA o FGR sono ad aumentato rischio di ipo- o iperglicemia, secondo quanto riportato sopra (61,62). In età prepuberale i bambini nati con basso peso alla nascita o IUGR, in seguito a test di tolleranza al glucosio orale o endovena, presentano maggiore risposta insulinica acuta rispetto ai controlli, con livelli plasmatici superiori di insulina per mantenere il glucosio in range normoglicemico a fronte di un'aumentata insulino-resistenza (77,78). Alterazioni analoghe si riscontrano anche dopo la pubertà e nei giovani adulti (78,79). Sulla base delle sue recenti scoperte, Barker insieme ad Hales propose un meccanismo di adattamento fetale che predisponesse nel lungo termine allo sviluppo di diabete mellito di tipo 2. Secondo tale ipotesi, denominata *thrifty phenotype hypothesis* (80), il feto con ridotta crescita presenta un deficit di funzione delle cellule β del pancreas a causa dello stato di iponutrizione intrauterino in cui si trova; dopo la nascita tuttavia la malnutrizione viene meno ed anzi il bambino comincia ad iperalimentarsi, nonostante il deficit di funzione endocrina pancreatica e l'insulino-resistenza da ridotta sensibilità all'ormone nei tessuti periferici. In questo contesto si svilupperebbe poi, in età adulta, il diabete. Tale ipotesi sembra in parte smentita dall'evidenza che la funzionalità delle cellule beta pancreatiche è di fatto conservata in soggetti SGA adulti, come dimostrato da Veening et al. (81). La

biopsia del muscolo scheletrico di giovani soggetti nati con basso peso alla nascita ha dimostrato inoltre una ridotta espressione di proteine implicate nel signaling dell'insulina, compatibile con l'aumentata resistenza insulinica dei tessuti periferici (82).

Un altro importante determinante della sindrome metabolica alterato in soggetti adolescenti e adulti con basso peso alla nascita o SGA è la pressione arteriosa, in particolare la sistolica (83–85). Un recente studio pubblicato nella rivista *Journal of Hypertension* (86) ha correlato le traiettorie di crescita fetale di circonferenza addominale, circonferenza cranica e lunghezza del femore identificate tramite ecografie seriate in una coorte di donne in gravidanza dalla quindicesima settimana gestazionale in poi, con la misura di pressione sistolica e diastolica nei soggetti nati da tali gravidanze a 20, 22 e 27 anni di età. Livelli elevati di pressione sistolica sono stati correlati positivamente e in maniera statisticamente significativa con una ridotta circonferenza addominale fetale mantenuta stabile o con ulteriore decremento in corso di gravidanza, e con una ridotta circonferenza cranica mantenuta stabile dalle 15 SG al parto o una circonferenza cranica normale con caduta della traiettoria durante la gestazione. Questa evidenza suggerisce un ruolo fondamentale dell'ambiente intrauterino nello sviluppo di ipertensione arteriosa in tarda età. Tra i vari meccanismi proposti per spiegare tale associazione è stata ipotizzata un'alterata sintesi di elastina durante un periodo critico per la morfogenesi fetale delle arterie, cui consegue una maggiore rigidità e una minore compliance di aorta e dei grandi vasi in generale (87). Bambini SGA rivalutati in periodo preadolescenziale hanno dimostrato inoltre disfunzione endoteliale ed aumentata rigidità vasale, indici di possibile sviluppo di placca aterosclerotica ed elevata pressione in età più tardiva (88).

Fattori significativi per il turbamento della normale omeostasi glucidica e pressoria negli adulti nati SGA sono la velocità di crescita del bambino e l'apporto nutrizionale che egli riceve dopo la nascita. L'associazione con un incremento ponderale dopo la nascita è testimoniata da numerosi studi in letteratura (89), ma non è chiaro quale sia il periodo di recupero di crescita a maggior rischio per lo sviluppo di sindrome metabolica. Barghava et al. (90) hanno analizzato un gruppo di giovani adulti tra i 26 e i 32 anni di età, notando una correlazione positiva tra ridotta tolleranza al glucosio e diabete e una storia pregressa di ridotto peso dalla nascita ai 2 anni di età con successivo incremento di BMI fino all'età adulta.

Risultati simili sono stati raggiunti da Embleton et al. (91) nel 2016, rilevando una forte associazione in un gruppo di bambini nati prematuri tra rapido aumento ponderale dopo l'anno di età e ridotta sensibilità insulinica, aumentata pressione arteriosa e alterata distribuzione del grasso corporeo. Altri studi suggeriscono invece che sia il recupero ponderale entro i primi mesi o anni di vita ad avere la maggiore influenza sui determinanti metabolici del bambino e dell'adulto (92,93). La rapida crescita del bambino sembra essere particolarmente importante nel definire successivamente la distribuzione del grasso corporeo: è dimostrata una forte associazione tra ridotto peso alla nascita con rapido recupero di crescita durante l'infanzia o l'età evolutiva e la riduzione in età pediatrica o adulta di massa magra, l'aumento di BMI, di percentuale di massa grassa, di grasso viscerale, di circonferenza della vita e di rapporto adipe nel tronco:adipe totale (94-96). Nei soggetti con basso peso alla nascita si osserva in età tardiva anche dislipidemia, con aumento delle concentrazioni plasmatiche di colesterolo totale, LDL, trigliceridi e ridotte concentrazioni di HDL (97), con associazione positiva ad incremento ponderale post-natale (96).

Modificazioni dei marcatori metabolici sono altresì correlate al tipo di nutrizione nel neonato. Due studi pubblicati da Singhal ad inizio anni 2000 (98,99) hanno dimostrato come rispetto all'assunzione post-natale di latte materno di donatrice senza supplementi o di formula standard utilizzata per i nati a termine, la formula per pretermine (PF), arricchita di nutrienti per far fronte alle maggiori esigenze nutrizionali dei bambini prematuri, fosse associata a 13-16 anni ad una pressione arteriosa media superiore di circa 4,2 mmHg e ad un incremento di split 32,33 proinsulina plasmatica, indice di insulino-resistenza. Gunther et al. (100) descrissero invece un aumento in BMI e percentuale di grasso corporeo a 7 anni in bambini che avevano assunto alti apporti di proteine a 12 mesi e a 18-24 mesi.

È comunque da considerare che la promozione del rapido guadagno ponderale tramite nutrizione va generalmente incoraggiata nel primo anno di vita perché correlata a migliori outcome in termini di crescita e sviluppo neurologico (91); inoltre, come sopra riportato, studi consolidati come quello di Embleton et al. (91) propendono a identificare dopo l'anno di età il periodo in cui una rapida crescita è più pericolosa per lo sviluppo di disturbi metabolici.

Ricordando le prime osservazioni che portarono Barker a formulare la sua ipotesi, è chiaro che il danno cardiovascolare negli adulti con ritardo di crescita intrauterino non si esplicita nella sola presenza di ipertensione. Soggetti nati con basso peso alla nascita sono più prone a sviluppare cardiopatia ischemica in età adulta, specie a seguito di un rapido recupero di peso dopo il primo anno di età (101), e ictus (102). Nonostante un ruolo cardinale nella patogenesi di questi outcome sia legato ai determinanti di malattia cardiovascolare precedentemente trattati come ridotta tolleranza glucidica, dislipidemia e ipertensione, nei feti FGR è stato osservato un rimodellamento cardiaco volto a contrastare la ridotta disponibilità di nutrienti e di ossigeno nell'utero materno (103); in età evolutiva il bambino può mostrare all'ecocardiografia segni di tali adattamenti fetali, con un cuore di forma globulare, con ridotta motilità longitudinale e alterato rilascio (104). Negli adulti che avevano avuto ritardo di crescita intrauterino è riportato inoltre un aumento di spessore intima-media (IMT) della carotide (105), indice precoce di placca aterosclerotica e quindi, se elevato, predisponente ad eventi cardio- e cerebrovascolari (106).

Infine, è opportuno citare i disturbi del neurosviluppo che colpiscono i soggetti nati con ritardo di crescita intrauterino. Bambini IUGR o SGA presentano maggior rischio di avere disabilità intellettiva (107), con un QI mediamente inferiore rispetto ai bambini AGA di pari età (108), e motoria (109). Un inadeguato recupero di crescita dopo la nascita si associa a peggiori esiti neurologici (110), inversamente a quanto detto per gli esiti cardiometabolici. Per questo la nutrizione del bambino deve essere ben ponderata sulla base dei rischi e benefici che un'eccessiva o un'insufficiente crescita può comportare.

Nonostante non sia ancora possibile prevenire o curare il ritardo di crescita intrauterino, una gestione precoce del bambino, sia prima che dopo la nascita, e un adeguato stile di vita durante il corso della vita, si associano a migliori outcome in età tardiva.

1.2.5 Stato osseo nel bambino pretermine e IUGR

Diversi fattori contribuiscono ad un'adeguata crescita e salute ossea fetale. Uno di questi è certamente l'equilibrio fosfo-calcico, che nel feto presenta delle differenze sostanziali da quello dell'adulto, sia in termini di concentrazioni ematiche di minerali e di ormoni regolatori, sia in termini di organi che

contribuiscono al suo mantenimento. I livelli plasmatici di calcio, fosforo e magnesio sono maggiori di quelli riscontrati nell'adulto; lo stato di ipercalcemia fetale, tuttavia, non provoca all'organismo i danni che si rilevano per simili concentrazioni durante la vita extra-uterina, e anzi risulta fondamentale per un'adeguata mineralizzazione ossea. Il principale organo regolatore dell'omeostasi fosfo-calcica durante la gestazione è la placenta. A questo livello avviene un trasporto attivo contro gradiente di minerali che consente al feto di mantenere una corretta calcemia e fosfatemia anche in caso di ipocalcemia non eccessivamente severa nella madre. Oltre all'elevato potere di estrazione, la placenta è implicata nella produzione di PTHrP, un peptide analogo al frammento N-terminale del PTH che presenta un ruolo centrale nella regolazione del calcio sierico nel feto, non potendo il PTH passare attraverso la barriera ematoplacentare e venendo prodotto in basse concentrazioni dalle paratiroidi fetali (111). Nonostante le concentrazioni ematiche di PTH nel feto siano molto ridotte per il meccanismo a feedback negativo stabilito dall'ipercalcemia fetale, è anch'esso un ormone cruciale per l'equilibrio di calcio e fosfati: una diminuita espressione di PTH o PTHrP comporta una riduzione del calcio e un incremento del fosforo sierico. La calcitonina, ormone implicato nella riduzione della calcemia, è al contrario ben rappresentata a livello ematico, sempre in risposta all'elevato carico di calcio in circolo (111). Il calcitriolo (o 1,25-diidrossicolecalciferolo, forma attiva della vitamina D) è presente in concentrazioni inferiori rispetto all'adulto perché non attraversa la placenta e la sua produzione è inibita dalla scarsa attività dell'1- α -idrossilasi (111). Tuttavia è appurato che il 25-idrossicolecalciferolo, sua forma inattiva, è in grado di oltrepassare la barriera ematoplacentare, quindi la supplementazione di vitamina D nella madre durante la gravidanza si associa ad aumentate concentrazioni plasmatiche del preormone nel feto (112). Diversi studi hanno indagato i possibili effetti benefici della supplementazione di vitamina D nelle donne gravide che ne fossero carenti, con risultati contrastanti. Nonostante siano state trovate correlazioni positive tra deficit di 25-idrossicolecalciferolo ed esiti materni, come pre-eclampsia e diabete gestazionale, o neonatali, come ridotto peso e dimensioni alla nascita (113), non c'è un consenso univoco su questo tema e diverse metanalisi e review in letteratura sono caute nel confermare queste ipotesi (114,115). Pur non avendo chiari effetti positivi sugli outcomes della gravidanza,

la somministrazione di vitamina D è sicura, contribuisce ad un buono stato osseo nella madre ed aumenta le riserve di 25-idrossicolecalciferolo che possono essere utilizzate dal bambino dopo la nascita (114,115), perciò ne viene consigliato l'utilizzo in caso di stato carenziale.

Nelle prime ore dopo la nascita, con l'esclusione dell'apporto placentare e la respirazione del bambino, il calcio sierico tende a diminuire mentre i fosfati aumentano. Entro le 24-48 ore dalla nascita le paratiroidi diventano più reattive, con valori sierici di calcio e fosfati che tenderanno a normalizzarsi e a stabilizzarsi sui livelli riscontrabili anche nell'adulto grazie all'azione del PTH. Rene ed intestino, per azione del PTH, cominciano a lavorare come nell'adulto: il rene riassorbe il calcio e partecipa alla sintesi di calcitriolo mentre l'intestino, che fino al parto assorbiva il calcio in maniera passiva, sotto lo stimolo della vitamina D attivata favorisce l'assorbimento per trasporto attivo. Anche a livello osseo si ha riassorbimento calcico per azione del PTH. Il PTHrP ematico si riduce in prima giornata ma aumenta successivamente nei bambini nutriti con latte materno, ricco di tale ormone (111).

Entrando nel merito dell'evoluzione dello scheletro nel feto prima e nel bambino poi, è opportuno definire cosa sia l'osso e le componenti che lo costituiscono. L'osso è un tessuto rigido che deve le sue proprietà alla sua ricca componente collagenosica e alla mineralizzazione data dalla deposizione di idrossiapatite, cioè di calcio complessato a fosfati. La componente cellulare è formata da osteoblasti, osteoclasti e osteociti, cellule implicate principalmente nel riassorbimento e nella mineralizzazione ossea. La porzione esterna dell'osso è nella maggior parte dei casi costituita da osso compatto, la corteccia, che conferisce rigidità all'osso, mentre centralmente si trova l'osso spugnoso, costituito da trabecole nelle cui cavità si localizza il midollo osseo (116).

Durante l'embriogenesi si formano gli addensamenti di mesenchima da cui origina il processo di ossificazione, il quale può verificarsi secondo due modalità: l'ossificazione intramembranosa, che prevede la diretta evoluzione degli addensamenti in tessuto osseo, e l'ossificazione per sostituzione o indiretta, che riguarda la maggior parte dello scheletro e presuppone la maturazione di modelli cartilaginei ialini che verranno sostituiti da osso in corso di accrescimento pre- e post-natale. I centri di ossificazione primari sono i nuclei encondrali diafisari da

cui comincia la sostituzione della cartilagine ialina nel processo di ossificazione indiretta, e si formano nelle vertebre e nello scheletro appendicolare già a partire dalle 7 settimane di gestazione (117). Il feto presenta un elevato tasso di crescita scheletrica, in particolare nel terzo trimestre quando si deposita circa l'80% dei minerali: se prima delle 25 settimane gestazionali si accumulano nell'osso circa 60 mg di minerali al giorno, tra la 35^a e la 38^a settimana di gestazione la richiesta è quintuplicata. L'aumentata ossificazione e mineralizzazione ossea nel terzo trimestre, resa possibile dall'ipercalcemia e iperfosfatemia fetale, rendono conto dell'elevata densità ossea dei bambini nati a termine rispetto ai prematuri. L'interruzione del flusso placentare di minerali dovuta a parto pretermine o a patologie della madre predispongono dunque ad un'alterata composizione e mineralizzazione ossea del soggetto. Dopo la nascita le richieste di calcio sierico per la maturazione ossea si riducono a 30-40 mg/kg/die, compatibilmente con la riduzione di calcio ematico in seguito al parto. La dieta diventa la principale fonte di calcio, quindi in caso di scarsa funzionalità intestinale, come nel neonato pretermine con peso alla nascita molto basso, viene compromessa la mineralizzazione ossea. In questi casi, formule orali o soluzioni parenterali ricche di calcio e fosfati contribuiscono ad un appropriato accrescimento dello scheletro (111,118). Infine, un altro fattore è implicato nel contrastare la riduzione della massa ossea, cioè l'attività fisica. Frost (119) per primo ha coniato il termine meccanostato per definire il contributo dei carichi meccanici sul rimodellamento dell'osso. In particolare, la deformazione elastica dell'osso stimola i processi dinamici dell'osso, contribuendo ad un adattamento dell'osso agli stimoli ambientali: in caso di disuso l'osso perde massa e forza, viceversa in caso di sollecitazioni meccaniche che deformano la massa ossea. Se dunque i movimenti del feto contro le pareti uterine stimolano la maturazione ossea, il neonato pretermine cresce in un ambiente esterno povero di stimoli meccanici ed è spesso ipotonico o sedato, risultando a maggior rischio di fragilità scheletrica (120).

Una ridotta mineralizzazione ossea comporta alterazioni patologiche dell'osso che sono riassunte sotto il nome di "Metabolic Bone Disease" (MBD) o osteopenia della prematurità (118). In linea con quanto già trattato, si tratta di una complicanza più frequente nei prematuri e soprattutto nei neonati con basso peso alla nascita, con un'incidenza stimata intorno al 20% tra i bambini very low birth weight (peso alla nascita <1500 g) e intorno al 50% negli extremely low birth

weight (peso alla nascita <1000 g) (121). Inoltre, il ritardo di crescita intrauterino è un fattore di rischio indipendente per l'osteopenia della prematurità (122). È stato dimostrato in modelli murini che la condizione di IUGR da insufficienza uteroplacentare predispone ad un deficit di ossificazione endocondrale alla nascita per modifiche cellulari all'interno della piastra di crescita, associato a ridotta lunghezza, mineralizzazione e forza dell'osso (123). Questi dati non sono tuttavia confermati da studi effettuati sull'uomo. La gestione del neonato dopo il parto è cruciale nel prevenire l'insorgenza della patologia. Latte in formula non arricchito in minerali o latte materno senza supplementi di calcio, fosforo e vitamina D possono far progredire la malattia ossea del bambino a rischio, così come periodi prolungati di nutrizione parenterale (124). Infatti le formule parenterali, anche se arricchite di calcio e fosfati, presentano un limite intrinseco che è quello della tendenza dei minerali a precipitare in soluzione se presenti in concentrazioni eccessive (125). Evidenze dimostrano inoltre che un elevato intake di fosforo nel bambino, se non accompagnato da un altrettanto consistente intake di calcio, provoca iperparatiroidismo con conseguente riassorbimento osseo (126). Farmaci che causano osteoporosi nell'adulto possono provocare demineralizzazione ossea anche nel bambino; tra i più somministrati nei neonati si trovano i glucocorticoidi, che perturbano l'equilibrio di riassorbimento e apposizione ossea agendo su osteoblasti e osteoclasti, e i diuretici dell'ansa, che inibiscono il riassorbimento renale di calcio e ne aumentano l'escrezione (127,128). Infine, alcune patologie del neonato come la displasia broncopolmonare e l'enterocolite necrotizzante, spesso associate a prematurità, possono influire negativamente sulla disponibilità di calcio ematico: neonati con malattie polmonari croniche richiedono contributi energetici superiori alla norma e l'utilizzo di steroidi e diuretici dell'ansa, mentre patologie intestinali possono ridurre l'assorbimento enterale di calcio e fosfati (124).

La clinica della malattia è normalmente silente durante l'infanzia, infatti la definizione di metabolic bone disease si basa non tanto su segni e sintomi, quanto piuttosto sull'evidenza agli esami strumentali e biochimici di una ridotta mineralizzazione ossea nei pazienti se comparata a quella di soggetti di pari età gestazionale e peso alla nascita (118). La severità del quadro correla negativamente con la densità minerale ossea (BMD), corrispondente alla massa ossea per unità di volume e indice di mineralizzazione; per valori di BMD

inferiori al 20-40% possono comparire segni classicamente associati al rachitismo, come deformità del cranio e fratture (129). Högberg et al. hanno evidenziato una forte associazione tra fratture delle ossa lunghe e delle coste nella prima infanzia con fattori di rischio spesso correlati a MBD, come la prematurità, il deficit di vitamina D e disturbi del metabolismo calcico (130). L'incidenza di fratture spontanee nei neonati ELBW con MBD è stimata intorno al 30% in uno studio del 2014, con coste, omero e femore come sedi più colpite (131). Anche quando presenti, le fratture non sempre si manifestano con dolore, gonfiore e deformità visibili, ma sono più spesso diagnosticate grazie a radiografie effettuate per altri motivi (124). Alcune evidenze mostrano ridotto contenuto minerale osseo valutato tramite DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) nei bambini nati prematuri, con tuttavia un recupero dopo le 40 settimane di gestazione (132,133). In età evolutiva ed adulta i risultati sono contrastanti, ma sembra che i bambini nati prematuri siano più prone a raggiungere densità minerali ossee inferiori rispetto a bambini e adulti sani (134,135), predisponendo ad osteoporosi e quindi a fratture in età più avanzata.

Lo screening di osteopenia della prematurità viene effettuato tramite esami biochimici e di imaging. Recentemente sono stati studiati nuovi marcatori laboratoristici per l'identificazione precoce della malattia; tuttavia, il gold standard nella pratica clinica è la ricerca di due marcatori sierici: la fosfatasi alcalina (ALP), proposta come marker di MBD da Kovar nel 1982 (136), e i livelli sierici di fosforo. La fosfatasi alcalina (ALP) è una glicoproteina espressa in quattro differenti isoforme da più tessuti dell'organismo, come l'osso, l'intestino e la placenta. Nel neonato il 90% di ALP è di origine ossea e la sua concentrazione ematica cresce fisiologicamente nelle prime 5-6 settimane di vita a causa dell'elevato turnover osseo del periodo neonatale (137). La maggior parte degli studi in letteratura hanno confrontato le concentrazioni ematiche di fosfatasi alcalina con segni radiologicamente evidenti di demineralizzazione ossea per stabilire il cut-off migliore per la diagnosi di MBD: Kovar et al. proposero un livello di $ALP > 1650$ UI/L in una coorte di bambini nati pretermine (136), Hung et al. (138) dimostrarono una sensibilità ed una specificità intorno al 75% utilizzando un valore soglia di ALP a tre settimane di 700 UI/L in bambini prematuri, altre evidenze ancora identificano come valore limite più opportuno 500 UI/L di ALP per bambini prematuri o con peso alla nascita molto o

estremamente ridotto (139,140). Nonostante non ci sia un vantaggio nell'utilizzare la fosfatasi alcalina specifica dell'osso rispetto ad ALP totale in condizioni normali (138,141), in caso di patologie che innalzano i livelli di ALP epatica come la colestasi l'isoforma specifica per l'osso rappresenta un buon sostituto per evitare falsi positivi (137).

L'ipofosfatemia è il marker più precoce di alterato metabolismo calcico, si manifesta a 7-14 giorni di vita e se riscontrata in associazione ad elevati livelli di ALP è fortemente indicativa di malattia ossea nel bambino (118). Lo dimostra lo studio pubblicato da Backstrom nel 2000 (141), in cui livelli ematici di ALP superiori a 900 UI/L e di fosfato inferiori a 1,8 mmol/L presentavano una sensibilità del 100% e una specificità del 70% nel rilevare una ridotta densità minerale ossea a 3-6 mesi di età corretta in bambini pretermine VLBW. Lee et al. nel 2017 (142) hanno avvalorato l'ipotesi di Backstrom osservando che in bambini di peso inferiore a 1000 g una ridotta fosforemia a 2-3 settimane ed elevate concentrazioni sieriche di ALP a 4-5 settimane di vita si associavano ad una ridotta densità minerale ossea nell'infante.

Il PTH è stato recentemente identificato come marker di demineralizzazione ossea, con sensibilità e specificità molto elevate se riscontrato in concentrazioni sieriche superiori a 180 mg/dL dopo tre settimane di vita (143). Se associato al riassorbimento tubulare di fosforo (TRP), cioè alla frazione di fosforo riassorbita dopo la filtrazione renale, il PTH dà informazioni aggiuntive sul tipo di deficit minerale in atto: un basso TRP associato ad elevato PTH è indicativo di una carenza di calcio, mentre un elevato TRP associato a ridotto PTH ematico suggerisce una carenza di fosforo (144). Il rapporto tra calcio o fosfato urinari e creatinina urinaria potrebbe aiutare nell'identificazione della malattia, ma risente molto della nutrizione e della somministrazione nell'infante di farmaci come la furosemide (145). Infine, nello studio di Catche et al. del 2016 sono stati identificati valori sierici elevati di osteocalcina, proteina sintetizzata dagli osteoblasti, nei neonati con ridotto contenuto minerale osseo a 3 mesi di età corretta, suggerendo un suo possibile ruolo come marcatore di turnover osseo (146).

Non sono presenti linee guida europee aggiornate sulla diagnosi biochimica di MBD; le più recenti linee guida americane raccomandano di iniziare lo screening

di laboratorio a partire da 4-6 settimane di vita, con maggiore riguardo nel follow-up dei bambini che presentano concentrazioni ematiche di fosforo inferiori a 4 mg/dl (1,3 mmol/L) o superiori a 1000 UI/L di ALP (147).

L'imaging per lo screening di MBD prevede l'utilizzo di radiografia, DEXA e ultrasonografia quantitativa (QUS).

La radiografia può evidenziare segni di malattia ossea solo in caso di mineralizzazione ridotta per più del 20%, spesso in occasione di esami radiologici effettuati per altri motivi in corso di ricovero (137). Oltre all'evidenza di frattura, tra le modificazioni ossee più facilmente riscontrabili si citano un ridotto spessore della corticale, epifisi allargate e margini ossei irregolari (144). Uno score coniato da Koo et al. (148) suddivide la patologia in tre diversi gradi di severità crescente in funzione dell'identificazione di segni radiologici rispettivamente di osteopenia, rachitismo e fratture spontanee a livello di caviglia e polso. Nonostante entrambi possano essere presenti nel bambino con MBD, è da sottolineare che osteopenia e rachitismo non sono termini interscambiabili, in quanto il primo indica una forma lieve di osteoporosi con deficit di trabecolatura ossea e conseguente riduzione di massa ossea, mentre il rachitismo, corrispettivo pediatrico dell'osteomalacia, si caratterizza per una scarsa mineralizzazione con accumulo di osteoide non mineralizzato e maggiore morbilità e debolezza dell'osso (149). Data la difficoltà nel descrivere la malattia ossea radiologicamente prima che si sia instaurato un danno importante, la radiografia non può essere considerata come strumento utile per lo screening precoce di metabolic bone disease (150).

La DEXA, al contrario, è considerata il gold standard per la valutazione della densità minerale ossea del bambino. In particolare la DEXA permette di valutare, tramite due fasci di raggi X di differenti livelli energetici, la quantità di idrossiapatite per centimetro quadrato di osso, predicendo con buona accuratezza lo sviluppo di malattia ed il rischio di frattura nell'infante (145). Se la DEXA misura l'osso in due dimensioni, la tomografia computerizzata quantitativa potrebbe fornire una valutazione tridimensionale dell'osso, analizzandone la geometria oltre che la mineralizzazione; nonostante ciò, si tratta di uno strumento che non è ancora stato ben studiato in età così precoce (137). La DEXA presenta numerosi altri limiti, come l'utilizzo di radiazioni ionizzanti potenzialmente dannose per il bambino, la sua poca praticità data la difficoltà nell'eseguire

l'esame al letto del neonato e l'eventuale ricorso alla sedazione per evitare movimenti del paziente che andrebbero ad inficiare gli esiti dell'esame (150).

Per tali ragioni attualmente si fa largo utilizzo dell'ultrasonografia quantitativa (QUS), più semplice e maneggevole da adoperare a letto del paziente, non invasiva, economica e priva degli effetti dannosi delle radiazioni ionizzanti (150). La QUS prevede la generazione di un fascio di ultrasuoni da una piastra emittente e la conseguente ricezione in un'altra piastra delle stesse onde dopo aver attraversato i tessuti, e permette di misurare sia la velocità delle onde attraverso il campione (speed of sound, SOS) sia il tempo di trasmissione ossea (bone transmission time, BTT), definito come la differenza di tempo impiegato dall'onda che arriva più rapidamente e quella che arriva più lentamente alla piastra ricevente. La velocità ultrasonografica fornisce una valutazione di densità e mineralizzazione, elasticità, spessore della corticale e microarchitettura dell'osso; il BTT fornisce le medesime informazioni minimizzando l'effetto confondente dei tessuti molli, garantendo una caratterizzazione più attendibile della componente ossea (151,152). Tra i siti più utilizzati per la misurazione nei neonati pretermine o a termine si riscontrano radio, omero, tibia e secondo osso metacarpale (151). Valori inferiori a 2 deviazioni standard di BTT misurato a livello della diafisi del secondo osso metacarpale e corretto per età gestazionale e lunghezza del paziente sono diagnostici per MBD (153). In una recente review Tong et al. (152) hanno analizzato 29 studi presenti in letteratura per identificare quali fossero le correlazioni più significative tra i parametri ultrasonografici e le caratteristiche della popolazione neonatale in cui erano stati valutati. È emersa una correlazione positiva tra i valori di SOS ed età gestazionale, coerentemente con l'immatùrità ossea dei neonati pretermine rispetto ai nati a termine, e peso alla nascita. Inoltre SOS correla positivamente con i valori sierici di fosforo, di calcio e di vitamina D e negativamente con i livelli sierici di ALP, suggerendo che la QUS in combinazione all'utilizzo di marcatori sierici può essere un utile strumento nella diagnosi di metabolic bone disease. Ritschl et al. (151) hanno descritto le caratteristiche ultrasonografiche di 338 bambini misurate a livello del secondo osso metacarpale (mcSOS e mcBTT), osservando anche in questo caso una correlazione tra parametri ultrasonografici, età gestazionale e parametri antropometrici del bambino (Figura 1). Sono state studiate le modificazioni di mcSOS e mcBTT durante la crescita del neonato, differenziando tra nati a termine

e pretermine. Durante l'ultimo trimestre di gravidanza i parametri ultrasonografici aumentano considerevolmente (151). Nei bambini nati a termine, dopo la nascita, si descrive un decremento di SOS con un raggiungimento di valori minimi a 6 mesi di età, periodo dopo il quale SOS aumenta nuovamente fino al raggiungimento, a 18 mesi, dei valori riscontrati alla nascita (151). Rischl suggerisce che la riduzione di mcSOS nei bambini studiati sia legata all'incremento dell'indice di massa corporea dopo la nascita (151). Il mcBTT al contrario, essendo più strettamente correlato allo spessore e alla mineralizzazione della corticale, si mantiene costante dalla nascita in poi (151). Anche nei bambini pretermine (Figura 2) si osserva una riduzione progressiva di mcSOS dopo la nascita ma in questo caso il picco di minore SOS si riscontra più precocemente, entro i due mesi di vita. Invece il mcBTT si comporta diversamente nei pretermine rispetto ai nati a termine, perché continua ad aumentare dopo la nascita, sebbene più lentamente rispetto a quanto avviene durante la vita intrauterina, fino a raggiungere a 6 mesi di età valori paragonabili a quelli riscontrati nel gruppo di controllo (151). Queste evidenze dimostrano che l'ispessimento della corticale e la mineralizzazione ossea continuano ad aumentare nel bambino pretermine dopo la nascita, mentre nel bambino a termine tali processi si arrestano.

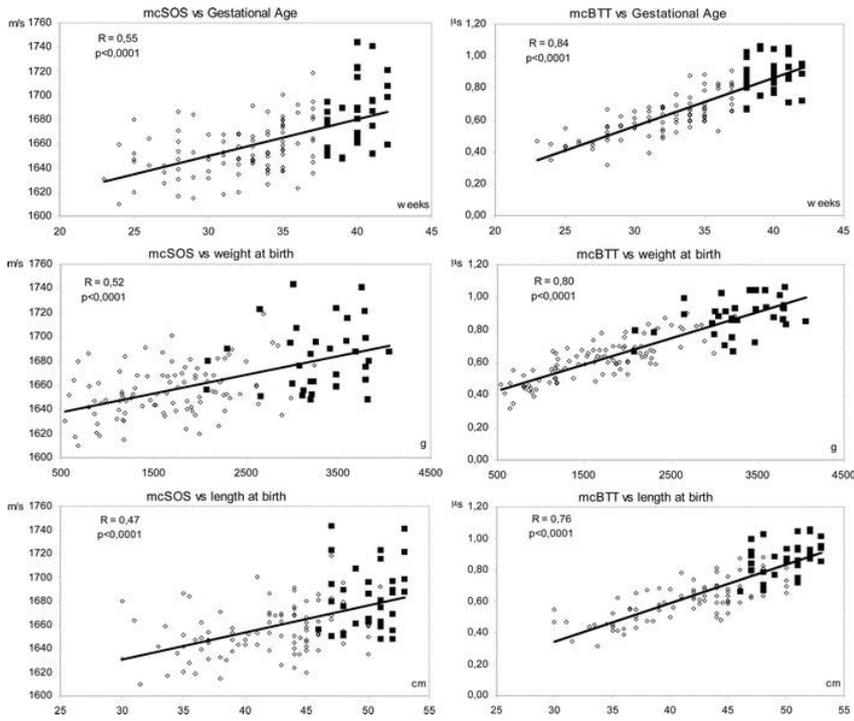


Figura 1: (A) mcSOS e (B) mcBTT vs età gestazionale, lunghezza e peso alla nascita. Pretermine: rombi bianchi; a termine: quadratini neri. Da Ritschl et al. (151)

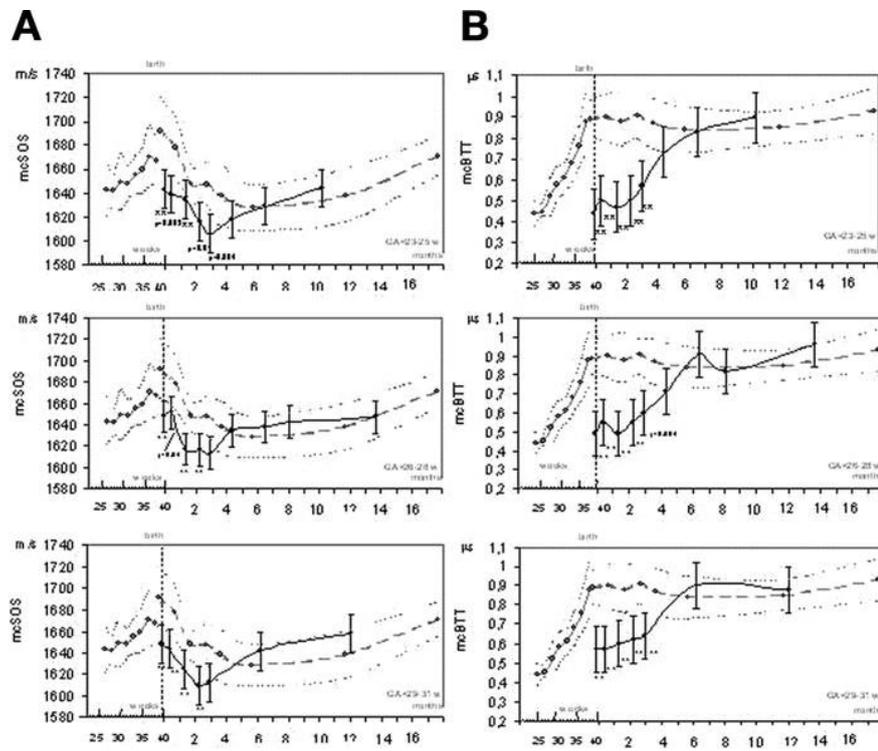


Figura 2: Modificazioni nel tempo nei bambini prematuri dopo la nascita: (A) mcSOS e (B) mcBTT. Sopra: otto soggetti di 23-25 SG; centro: 11 soggetti di 26-28 SG; sotto: 18 soggetti di 29-31 SG. L'andamento dei dati nei bambini prematuri (linea nera \pm 1 SD) si sovrappongono alle curve di riferimento (linea grigia \pm 1 SD). Da Ritschl et al. (151)

È possibile fare prevenzione di metabolic bone disease nei bambini prematuri adottando delle opportune misure nutrizionali, che includono un'adeguata assunzione di calcio e fosforo e supplementazione di vitamina D. Elevate concentrazioni di calcio e fosforo devono essere garantite sia dalla nutrizione parenterale, la quale dovrebbe essere limitata al minor tempo possibile, sia da quella enterale, tramite formule pretermine ricche in minerali o latte materno fortificato. In caso di calciopenia o fosfopenia può anche essere presa in considerazione la somministrazione di supplementi orali di calcio e fosfato (145). Inoltre, le linee guida ESPGHAN consigliano la somministrazione di 800-1000 UI di vitamina D al giorno negli infanti in nutrizione enterale per elevare i livelli sierici di 25-idrossicolecalciferolo e l'assorbimento di calcio (154). Altri accorgimenti che riducono l'esposizione dei bambini ai fattori di rischio tipici della MBD contribuiscono a prevenire l'insorgenza della malattia, come la limitazione nella somministrazione di farmaci che alterano il metabolismo fosfo-calcico e il rimodellamento osseo, quali diuretici e glucocorticoidi, o l'attività fisica con compressione articolare e mobilizzazione passiva del neonato (145).

1.3 Il ritardo di crescita extrauterino (EUGR)

Il ritardo di crescita extrauterino (EUGR) è l'analogo *ex utero* dell'IUGR, cioè una condizione in cui il bambino dopo la nascita non cresce in modo adeguato (155). Sebbene anche in questo caso non esistano criteri univoci e universalmente riconosciuti per porre diagnosi, generalmente si definisce ritardo di crescita extrauterino un peso misurato a 36 SG o alla dimissione inferiore al decimo percentile, oppure un calo ponderale superiore a una o due deviazioni standard tra la nascita e le 36 SG o la dimissione (155). Non è possibile al momento definire con esattezza l'incidenza di tale condizione, in quanto fortemente influenzata dalla definizione utilizzata, dal campione di bambini presi in esame e dalle caratteristiche del centro. Stevens et al. (156) ad esempio hanno riportato in un gruppo di bambini nati a meno di 31 SG in 18 diversi centri dello Stato di New York un'incidenza di EUGR, definito come peso inferiore al decimo percentile alla dimissione, variabile dall'11,8% al 60,2%, con una riduzione a 6,8-51,9% dopo aver applicato nel corso di quattro anni le pratiche cliniche raccomandate dalla letteratura. Lo sviluppo di ritardo di crescita post-natale è inoltre dipendente

dal grado di prematurità, con un incremento di prevalenza al diminuire dell'età gestazionale alla nascita (157).

Il ritardo di crescita extrauterino, come quello intrauterino, è multifattoriale. Bambini molto piccoli, non solo in termini di età gestazionale ma anche di peso alla nascita, manifestano più frequentemente le complicanze legate alla prematurità e presentano una richiesta di nutrienti e consumi energetici più cospicui rispetto alla controparte sana, predisponendo a EUGR (158). I neonati SGA e IUGR rientrano in tale categoria di pazienti, spesso non rispondono agli interventi nutrizionali e mantengono un peso inferiore a quanto atteso a 36 SG o alla dimissione, talvolta addirittura peggiore rispetto alla nascita in termini di percentili (159). Nel prematuro dopo il parto si assiste ad un calo ponderale talora molto marcato e si instaurano dei processi catabolici che richiedono un'alimentazione ricca per soddisfare le richieste nutrizionali del paziente. La somministrazione di nutrienti nel bambino può risultare insufficiente per una serie di motivi: una nutrizione parenterale e digiuni prolungati, il timore dei pediatri di indurre un'enterocolite necrotizzante nel bambino aumentando rapidamente i volumi enterali somministrati, l'inadeguatezza delle quantità giornaliere raccomandate di proteine e lipidi rispetto alla crescita in peso dell'infante o l'insufficiente fortificazione del latte materno o di donatrice (159). Una lenta velocità di crescita in termini di peso può essere indicativa di tutti questi fattori, ed è pertanto associata a EUGR (158). Durante il ricovero alcuni neonati possono andare incontro a complicanze, assumere farmaci o essere sottoposti a procedure invasive che correlano con il ritardo di crescita extrauterino; tra questi si citano patologie polmonari croniche come la displasia broncopolmonare, associata a ventilazione meccanica prolungata, la sepsi, la retinopatia della prematurità, l'utilizzo di steroidi post-natali, ma anche la durata stessa dell'ospedalizzazione (160).

Recentemente la ricerca si è concentrata sullo studio di fenomeni epigenetici e metabolomici come marcatori per il ritardo di crescita extrauterino. L'epigenetica è una branca della genetica che si occupa delle modificazioni ereditabili dell'espressione dei geni non indotte da alterazioni della sequenza in basi azotate del DNA (161). Tozzi et al. (162) hanno descritto un pattern di ipermetilazione del gene IC1 (Imprinting Center 1) prevalente nei bambini EUGR, cui consegue un'iperespressione di IGF2 (Insulin-like Growth Factor 2). Poiché tale fattore è

implicato nella regolazione della crescita, gli autori hanno ipotizzato che l'ipermetilazione di IC1 sia legato ad una riprogrammazione che promuove il recupero di crescita nei neonati con deficit nutrizionali. La persistenza di questo pattern associato ad aumentata espressione di IGF2 oltre il periodo neonatale potrebbe in parte spiegare i disturbi cardiometabolici riscontrati nei soggetti EUGR in età evolutiva o adulta. Meccanismi epigenetici predisponenti allo sviluppo di disordini metabolici e cardiovascolari sono attualmente in studio anche nei bambini con ritardo di crescita intrauterino (163). Altri studi hanno invece proposto l'analisi di metaboliti e del microbiota intestinale come biomarcatori di EUGR. Fan et al. (164) hanno evidenziato differenze nelle specie batteriche che colonizzano l'intestino dei non-EUGR rispetto agli EUGR, con una maggiore rilevazione nei primi di batteri tipicamente associati alle vie metaboliche del triptofano e dell'indolo. Dudzik et al. (165) hanno invece rilevato livelli significativamente ridotti di amminoacidi e di diversi fosfolipidi nel plasma dei pazienti EUGR, suggerendo l'importante ruolo che la metabolomica potrebbe avere nell'identificare i bambini a rischio di ritardo di crescita.

Similmente a quanto descritto per il ritardo di crescita intrauterino e per la popolazione SGA o di basso peso alla nascita, anche il ritardo di crescita post-natale si associa a possibili conseguenze negative sulla salute nell'infanzia o più tardivamente, soprattutto in termini di crescita e outcome neurologici e cardiometabolici. Nel periodo neonatale la mineralizzazione e la densità ossea risultano ridotte nei bambini con ritardo di crescita extrauterino (166). Una percentuale significativa, tra il 10% ed il 20%, dei soggetti EUGR alla dimissione presenta una bassa statura a 4-5 anni, a sua volta importante fattore di rischio per ridotta statura in età adulta (167). Il ritardo di crescita in peso è associato ad una ridotta circonferenza cranica sia nel periodo neonatale sia in età evolutiva, con peggiori esiti neurocognitivi e psicomotori in età pediatrica. Si associa, ad esempio, a ridotto quoziente intellettivo, disabilità visiva, paralisi cerebrale o a iperattività e difficoltà dell'apprendimento in età prepuberale (168). Ordóñez-Díaz et al. (169) hanno dimostrato modificazioni nell'assetto cardiometabolico ed infiammatorio nei bambini in età prepuberale con una storia di ritardo di crescita post-natale. Sono stati rilevati, in particolare, livelli mediamente più elevati di pressione arteriosa ed una prevalenza significativamente superiore di ipertensione nel gruppo EUGR; inoltre è stata identificata negli EUGR e non nel gruppo di

controllo una correlazione positiva tra i valori pressori e disordini del metabolismo glucidico, con glucosio plasmatico e indice di insulino-resistenza più elevati. Nello stesso gruppo si sono riscontrate concentrazioni ematiche maggiori di citochine come TNF- α , HGF ed MCP-1, evidenziando che il ritardo di crescita extrauterino si associa ad uno stato pro-infiammatorio che potrebbe contribuire al rischio cardiovascolare in età adulta (169). L'associazione di tutti questi fattori potrebbe favorire lo sviluppo di sindrome metabolica, al pari dei soggetti con ritardo di crescita intrauterino.

La prevenzione del ritardo di crescita extrauterino richiede una precoce identificazione dei bambini a rischio ed una riduzione o eliminazione dei fattori predisponenti tramite la gestione delle complicanze della prematurità, l'interruzione della somministrazione di farmaci potenzialmente dannosi per il neonato e, soprattutto, interventi nutrizionali standardizzati e mirati alle richieste dei pazienti. Le linee guida suggeriscono di iniziare nei bambini prematuri una nutrizione parenterale aggressiva per contrastare la perdita di peso ed il deficit proteico e calorico dei primi giorni di vita, e per far fronte ad eventuali esiti neurologici e alla scarsa crescita nel lungo termine. È inoltre importante iniziare il più precocemente possibile la nutrizione enterale del bambino a ridotti volumi, ed aumentare, anche in questo caso in maniera aggressiva, gli apporti nutrizionali fino al raggiungimento della nutrizione enterale completa. Quando possibile, la scelta migliore per il prematuro deve ricadere sul latte materno fortificato, perché associato a migliori outcome sia nel breve che nel lungo periodo rispetto al latte in formula. È infine consigliato evitare frequenti periodi di digiuno durante il ricovero (159).

1.4 Nutrizione del bambino prematuro

1.4.1 Tipi di alimentazione e modalità di somministrazione

La nutrizione nel bambino prematuro deve porsi come obiettivo il raggiungimento di una crescita quanto più sovrapponibile a quella del feto di pari età gestazionale, nonostante tale compito sia reso particolarmente complesso dalle differenze dell'ambiente intra- ed extrauterino e dalle frequenti complicanze che si verificano nei reparti di terapia intensiva neonatale dopo la nascita. Un ruolo altrettanto importante della dieta in questi neonati è la prevenzione di esiti

patologici in età precoce o tardiva, in particolare a carico del sistema nervoso centrale che per il suo sviluppo e maturazione richiede elevati carichi di energia e nutrienti (170).

Subito dopo la nascita, fisiologicamente, si assiste ad una contrazione di volume extracellulare che risulta in un calo ponderale stimato del 7-10% nei primi giorni di vita sia nei bambini pretermine che nei nati a termine, mentre gli SGA perdono circa il 4-7% del peso alla nascita (171). Per fronteggiare un eccessivo calo ponderale e per raggiungere il target di crescita sperato, è stata proposta per il prematuro, ed in particolare per i bambini con ritardo di crescita, una nutrizione “aggressiva” caratterizzata da elevati intake di nutrienti sin dalle prime ore di vita (172). Mantenendo apporti calorici e nutrizionali elevati nel prematuro di basso peso alla nascita si induce un rapido recupero di crescita (*catch-up growth* in inglese) che, sebbene si associ a migliori esiti in termini di crescita e sviluppo neurologico, è stato correlato a possibili disturbi cardiometabolici in età più avanzata (173).

Subito dopo la nascita l'intestino del prematuro non è abbastanza sviluppato da consentire l'assunzione di elevati introiti energetici e nutrizionali per via enterale. Dunque, per favorire l'anabolismo nel neonato, la somministrazione di nutrizione parenterale deve essere avviata immediatamente dopo la nascita. La nutrizione parenterale consiste nella somministrazione di nutrienti per via endovenosa e sopperisce all'interruzione dell'alimentazione materno-fetale tramite cordone ombelicale. Sebbene l'alimentazione fetale e quella parenterale possano sembrare simili a livello concettuale, è da sottolineare sia che il sangue placentare è ricco di sostanze come fattori di crescita normalmente non presenti nella nutrizione artificiale (174), sia che i due tipi di alimentazione differiscono per qualità e quantità di nutrienti, essendo le richieste del feto differenti da quelle del neonato (174). La nutrizione parenterale può comportare delle complicanze, soprattutto se prolungata. Si descrive ad esempio un aumentato rischio di sepsi, associato ad infezione del catetere venoso centrale; di osteopenia del prematuro, multifattoriale ed in parte legato alla precipitazione dei minerali e alla tossicità dell'alluminio in soluzione; di patologie epatiche come la colestasi, probabilmente dovute alle concomitanti infezioni e ai componenti delle formule parenterali; di ritardo di crescita, per la ridotta offerta nutrizionale dell'alimentazione endovenosa rispetto alla domanda del bambino (175).

Per minimizzare il rischio legato alla nutrizione parenterale e per supportare la maturazione intestinale, le linee guida europee raccomandano di avviare precocemente la nutrizione enterale se il bambino è in grado di tollerarla (171). Inizialmente si parla di *minimal enteral feeding*, che corrisponde all'introduzione di piccoli volumi di latte generalmente inferiori a 24 ml/Kg/die (176). È di seguito indicato un aumento rapido degli apporti enterali giornalieri, di circa 18-30 ml/kg/die, con la finalità di raggiungere velocemente la nutrizione enterale esclusiva e ridurre di conseguenza il tempo di ospedalizzazione del neonato (171). La nutrizione enterale esclusiva, detta anche *full enteral feeding*, si considera raggiunta quando il bambino assume 150 ml/Kg/die per via enterale (177).

La scelta del tipo di nutrizione enterale da somministrare al neonato deve ricadere in primo luogo sul latte umano. Il latte umano è un'emulsione di grassi a ricco contenuto di nutrienti, che si differenzia dalle comuni formule enterali per una serie di proprietà aggiuntive: componenti ormonali, enzimatiche, immunitarie, pre- e probiotiche e fattori di crescita (178). Il latte umano ha inoltre un ruolo protettivo verso alcune delle principali comorbidità del neonato prematuro, come l'enterocolite necrotizzante, la sepsi, la retinopatia della prematurità, la displasia broncopolmonare e, più in generale, riduce significativamente la mortalità del bambino (179). Il latte materno è preferito a quello di donatrice pastorizzato perché presenta un contenuto superiore di macronutrienti e fattori ad azione trofica e immunitaria. Purtroppo non sempre è disponibile in quanto la madre non ne produce a sufficienza; in tal caso è raccomandato procedere con la somministrazione di latte di donatrice e, in ultima linea, di formula per pretermine, arricchita in nutrienti rispetto alla comune formula per i nati a termine (180). Poiché il latte umano da solo non può soddisfare le richieste nutrizionali del prematuro, si integra con delle sostanze, i fortificanti, che forniscono quantitativi addizionali di macro- e micronutrienti. La fortificazione del latte umano va pensata in funzione delle caratteristiche del singolo paziente, ed è pertanto possibile in casi selezionati ricorrere ad una fortificazione personalizzata sulla base dei livelli sierici di urea del paziente (*adjustable fortification*) o dello studio delle componenti nutritive nel latte umano (*targeted fortification*) (179).

L'allattamento al seno materno e l'allattamento artificiale richiedono, nell'atto della suzione e deglutizione, una complessa coordinazione della muscolatura oro-buccale, faringea ed esofagea che il bambino prematuro nel primo periodo di vita

ancora non possiede (181). In tale fase la somministrazione di nutrienti avviene quindi per mezzo di tubi oro- o nasogastrici, preferibilmente tramite boli somministrati a distanza di 2-3 ore che facilitano il raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva (182). Il passaggio alla nutrizione orale deve avvenire in maniera progressiva ed in funzione dello stato clinico del neonato. La suzione non-nutritiva precoce sembra facilitare il raggiungimento di tale obiettivo (183).

I residui gastrici possono essere indice di intolleranza all'alimentazione nel bambino, ma il monitoraggio non dovrebbe essere effettuato quotidianamente nella pratica clinica, in quanto poco sensibile e potenzialmente dannoso (184). Pertanto, la ricerca di residui gastrici andrebbe limitata ai casi di effettivo rischio clinico nel paziente, con sintomi e segni di NEC e intolleranza all'alimentazione come vomito, distensione addominale e presenza di tracce ematiche nelle feci (171).

1.4.2 Richieste nutrizionali del prematuro

Negli ultimi decenni le principali società internazionali che si occupano di nutrizione in età pediatrica hanno stilato delle linee guida per standardizzare e migliorare la cura alimentare del neonato prematuro durante e dopo il ricovero nelle terapie intensive neonatali (171,185,186).

La somministrazione di liquidi nel neonato deve tenere conto del mantenimento omeostatico delle funzioni vitali del bambino e delle perdite di acqua da parte di cute, apparato respiratorio e gastrointestinale che si verificano nel periodo post-natale. L'immaturità renale e cardiovascolare e l'aumentata richiesta di acqua per favorire l'accrescimento rendono conto del più elevato intake di liquidi nei prematuri rispetto ai nati a termine. Nel primo giorno di vita gli introiti di fluidi nel bambino prematuro spaziano tra 60-100 ml/Kg, con carichi più elevati nei bambini di peso inferiore alla nascita. I liquidi vengono aumentati nel corso del ricovero e, quando si passa all'alimentazione enterale ed il bambino presenta una crescita stabile, si mantiene un'idratazione di 150-180 ml/Kg/die. (171,187,188)

In ciascun essere vivente l'energia immagazzinata attraverso i nutrienti concorre alla normale fisiologia cellulare. Buona parte dell'energia consumata dal prematuro è deputata al mantenimento dell'omeostasi e delle funzioni basali

dell'organismo, come la respirazione. Altre riserve energetiche sono destinate alla termogenesi indotta dalla dieta, correlata ad assorbimento, digestione e sintesi dei macronutrienti, all'attività fisica, che nel prematuro è generalmente poco significativa, e alla crescita. Il quantitativo di energia totale da somministrare al neonato è determinato dalla somma di energia metabolizzabile, cioè la spesa energetica di metabolismo e crescita, e l'energia persa con le feci. In prima giornata sono richieste almeno 45-55 Kcal/Kg, successivamente, in regime parenterale, si aumenta il carico energetico fino a 90-120 Kcal/Kg/die. Il passaggio alla nutrizione enterale determina un aumentato metabolismo splanchnico e una maggiore perdita di feci, perciò, con un tasso di crescita consigliato di 17-20 g/Kg/die, la richiesta energetica aumenta a circa 115-140 Kcal/Kg/die (171,189).

L'intake amminoacidico è importante per la formazione delle proteine e quindi per la costituzione della massa magra del bambino. La somministrazione sin dal primo giorno di vita di elevate concentrazioni tramite nutrizione parenterale correla positivamente con la crescita e lo sviluppo neurologico del bambino. Nelle prime fasi di vita l'introito di amminoacidi si assesta intorno a 2,5-3,5 g/Kg/die, poi aumentato a 3,5-4,0 g/Kg/die al passaggio alla nutrizione enterale per la minore biodisponibilità legata alla barriera intestinale. Oltre alla quantità è rilevante anche la qualità degli amminoacidi somministrati, avendo alcuni di questi ruoli specifici, come l'arginina, che riduce il rischio di enterocolite necrotizzante, o la taurina, che concorre ad un corretto sviluppo cerebrale. (171,190)

I lipidi sono un'importante fonte energetica, pertanto anch'essi vengono implementati nella nutrizione parenterale sin dai primi giorni di vita del prematuro sottoforma di emulsioni endovenose, in una concentrazione di 3-4 g/Kg/die. Raggiunta la maturità intestinale la richiesta lipidica del paziente sale a 4,8-8,1 g/Kg/die e, a differenza dei carichi amminoacidici, non è richiesta una fortificazione del latte materno essendo questo riccamente costituito da micelle di trigliceridi, colesterolo, fosfolipidi e altri grassi. Acido linoleico e linolenico sono acidi grassi polinsaturi a lunga catena essenziali, dai quali per allungamento e desaturazione originano l'acido arachidonico e l'acido docosaesanoico, detti perciò semiessenziali. Durante la gravidanza il trasporto placentare permette di avere buone concentrazioni di questi lipidi essenziali in circolo, mentre dopo la

nascita è opportuna una loro supplementazione, limitando il rischio di patologie associate alla loro carenza come retinopatia della prematurità, setticemia e displasia broncopolmonare. (171,191,192)

Poiché le riserve di glicogeno del neonato prematuro sono molto scarse, è raccomandata una precoce somministrazione di carboidrati esogeni che sostengano le richieste energetiche e lo sviluppo antropometrico e neurologico del bambino. Il target di carboidrati da raggiungere sia con la nutrizione parenterale che con quella enterale si assesta intorno a 10-15 g/Kg/die, ma è variabile in funzione della clinica del paziente e di eventuali stati ipo- o iperglicemici. Il principale carboidrato nel latte materno è il lattosio disaccaride, che viene idrolizzato in glucosio e galattosio dalla lattasi intestinale, mentre le formule enterali per pretermine contengono principalmente polimeri del glucosio. È importante non eccedere con le dosi raccomandate di carboidrati perché si potrebbe indurre un'aumentata deposizione di adipe e, soprattutto, uno stato iperglicemico. (171,187,193)

Per consentire una buona crescita e stato osseo nel neonato prematuro, la nutrizione deve promuovere la correzione dei bassi livelli ematici di minerali e vitamina D. Mentre il calcio è per la maggior parte utilizzato per l'accrescimento osseo, il fosforo svolge numerose funzioni deputate al mantenimento dell'omeostasi cellulare; intake elevati di fosforo ed un basso rapporto calcio:fosforo si associano ad un ridotto rischio di ipercalcemia e ipofosfatemia e quindi di debolezza muscolare, insufficienza respiratoria e cardiaca. Se presenti in elevate concentrazioni in soluzione parenterale, i minerali hanno la tendenza a precipitare causando un deficit di calcio e fosforo in circolo, motivo per cui andrebbe valutato regolarmente lo stato osseo dei bambini in nutrizione parenterale prolungata. Il latte materno è carente di minerali, pertanto, per ridurre il rischio di osteopenie e fratture, ne è richiesta la fortificazione. Non è ben chiara l'associazione tra mineralizzazione ossea ed eventuali deficit nella somministrazione di vitamina D, ma nei pretermine è buona pratica supplementarla con l'obiettivo di avere una concentrazione ematica superiore a 50 nmol/L di 25-OH-colecalciferolo. Per via parenterale si somministrano circa 80-400 UI/Kg/die, per via enterale l'intake raccomandato è tra 400-700 UI/Kg/die fino ad un massimo di 1000 UI/die. (171,194,195)

1.5 Metabolomica in neonatologia

Le scienze omiche nascono per descrivere la struttura e le interazioni dinamiche tra i diversi livelli di organizzazione biomolecolare che concorrono a definire, nella loro globalità, un sistema biologico complesso. A livello cellulare il DNA viene trascritto in una molecola di RNA, poi tradotta in proteine, che sono trasformate in metaboliti. Le molecole protagoniste di questa cascata vengono indagate da tali discipline, che si suddividono quindi in genomica, trascrittomica, proteomica e metabolomica (196). La metabolomica, nella sua accezione più moderna, si definisce come l'analisi qualitativa e quantitativa di metaboliti di basso peso molecolare in un campione biologico in un momento definito nel tempo (197). Si sottolinea infatti come nello stesso organismo si possano riscontrare assetti metabolomici diversi in campioni biologici ed in tempi differenti, in virtù del fatto che il sistema è in perenne mutamento e dipende dallo stato del paziente e dagli stimoli ambientali. Il tipo e la concentrazione dei metaboliti in circolo sono ad esempio correlati al microbiota intestinale, a fattori nutrizionali, ad agenti ambientali come farmaci o sostanze tossiche, nonché alla salute del soggetto; la metabolomica, ponendosi come ponte tra genotipo e fenotipo, potrebbe avere un ruolo nella diagnosi e nello studio dei meccanismi alla base di numerose patologie, ma anche nella valutazione della risposta a determinati trattamenti (196).

Nell'ambito della ricerca esistono diversi approcci all'analisi metabolomica. Il "metabolic targeting" prevede la ricerca di un singolo metabolita o di un piccolo gruppo di metaboliti, mentre il "metabolic profiling" va a ricercare dei metaboliti con proprietà simili o che partecipano alla stessa via biochimica. Entrambi gli approcci sono di tipo mirato ("targeted"), cioè vanno ad indagare quantitativamente dei metaboliti specifici scelti a priori che, sulla base dell'ipotesi formulata dallo sperimentatore, potrebbero essere alterati a causa di malattie, farmaci o stimoli di altra natura. Il "metabolic fingerprinting" utilizza al contrario un approccio non mirato ("untargeted"), che si pone come obiettivo la determinazione qualitativa e quantitativa del numero più alto possibile di metaboliti nei campioni biologici. In questo caso lo sperimentatore non formula un'ipotesi, ma si limita ad osservare e confrontare le differenze dell'intero

metaboloma in gruppi con caratteristiche differenti, ad esempio malati e non malati. Esiste anche il “metabolic footprinting”, che a differenza del precedente non va ad analizzare i metaboliti intracellulari ma quelli extracellulari (197).

Le tecniche più utilizzate per identificare e quantificare i metaboliti sono la risonanza magnetica nucleare (RMN) e la spettrometria di massa (SM), la prima più indicata per le indagini di tipo untargeted, la seconda per quelle di tipo targeted (198).

La spettroscopia con ^1H -RMN consiste nel posizionamento del campione all'interno di un campo magnetico ad una determinata frequenza di risonanza, con conseguente eccitazione dei nuclei dei metaboliti. A seguito dello spegnimento del campo magnetico i nuclei tornano al loro stato fondamentale ed emettono delle onde elettromagnetiche, il cui segnale viene registrato e rielaborato a formare uno spettro del campione. Si evidenziano nello spettro diversi picchi che forniscono informazioni dettagliate sul tipo di metaboliti nel campione e sulla loro struttura molecolare. Questa tecnica di indagine presenta dei punti di forza, come la semplicità e la rapidità di esecuzione e la conservazione del campione, ma è meno sensibile rispetto alla spettroscopia di massa e può fornire interpretazioni erranee dei singoli metaboliti a causa di una sovrapposizione del loro segnale (196,198).

La seconda tecnica più utilizzata è la spettrometria di massa. Il campione viene inserito nello spettrometro di massa e irradiato con fasci ionizzanti che inducono il guadagno o la perdita di cariche da parte dei metaboliti. Gli ioni così formati vengono separati sulla base del loro rapporto massa-carica (m/z), generando uno spettro in cui è possibile identificare i diversi metaboliti e i loro frammenti. Per facilitare l'analisi, prima di inserire il campione nello spettrometro di massa, generalmente si ricorre alla separazione dei metaboliti tramite gascromatografia o cromatografia liquida (199). Tra i vantaggi di questa tecnica si cita l'elevata sensibilità dello strumento e la capacità di rilevare numerosi metaboliti in un'unica misurazione, ma sono richiesti elevati volumi di campione ed i metaboliti vengono alterati irreversibilmente dalle radiazioni ionizzanti (197).

Il metaboloma non è ancora stato descritto nella sua interezza, ma esistono diversi database che raccolgono i metaboliti umani fino ad ora conosciuti. Lo “Human Metabolome Database” (HMDB) conta attualmente quasi 250.000 metaboliti differenti (<https://hmdb.ca/>).

Ci sono diverse evidenze in letteratura che supportano la metabolomica come futuro strumento diagnostico in neonatologia. I campioni più utilizzati in ambito pediatrico sono il sangue, le urine e le feci. È stato dimostrato non solo che il profilo metabolomico di neonati sani differisce da quello di bambini più grandi e da quello degli adulti, ma anche che già dai primi giorni di vita avvengono delle modificazioni del metaboloma che riflettono l'adattamento del neonato alla vita extrauterina (200). La differenza qualitativa e quantitativa tra i metaboliti riscontrati in stati fisiologici e patologici potrebbe aiutare ad intercettare delle anormali traiettorie metaboliche prima della manifestazione clinica della malattia. Sono state riscontrate delle discrepanze tra il metaboloma di neonati sani e quello di neonati prematuri, con ritardo di crescita intrauterino, con errori congeniti del metabolismo, andati incontro ad asfissia perinatale, con sepsi, enterocolite necrotizzante, displasia broncopolmonare, patologie renali o disfunzione cardiaca (201). Nei bambini IUGR si osserva un aumento delle concentrazioni urinarie di mioinositolo, un metabolita derivato dall'inositolo che si associa ad alterazioni del metabolismo glucidico e che potrebbe pertanto avere un ruolo nello sviluppo di resistenza insulinica e sindrome metabolica in questi soggetti in tarda età (202). Oltre al mioinositolo, nelle urine dei bambini IUGR sono aumentati anche altri metaboliti come la sarcosina, la creatina e la creatinina, indici di uno stato ipercatabolico accompagnato da ridotta sintesi proteica (203). Nei neonati SGA sono descritte alterazioni ematiche di amminoacidi e di acilcarnitina, che sono riscontrate anche in bambini e adulti obesi o con diabete mellito di tipo 2, suggerendo di nuovo la possibilità di utilizzare metaboliti come marcatori precoci di disturbi metabolici in età più avanzata (204). Si è inoltre notata una correlazione tra i metaboliti presenti nei campioni materni in gravidanza e quelli del neonato dopo il parto, suggerendo che l'indagine metabolomica della madre potrebbe predire lo stato di salute del nascituro (205). Ad esempio, durante la gravidanza nelle madri di bambini pretermine sono state descritte alterate concentrazioni di metaboliti in campioni di liquido amniotico, sangue, urine e fluidi cervicovaginali (206). Anche nel latte materno si possono osservare alterazioni nell'assetto metabolomico in funzione del decorso della gravidanza e del momento del parto: in caso di prematurità o IUGR, il latte della madre può avere concentrazioni più alte di oligosaccaridi, lattosio e colina, in modo da soddisfare le aumentate richieste nutrizionali e lo sviluppo del bambino (207). È

stato proposto da Isganaiatis et al. (208) che i costituenti del latte materno potrebbero avere un ruolo nell'aumento in peso ed in massa grassa del neonato, e che alcuni metaboliti del latte come l'adenina potrebbero essere implicati nella trasmissione da madre a figlio dell'obesità. Profili metabolomici differenti sono stati osservati nelle urine di neonati in funzione del tipo di alimentazione somministrata, con latte materno oppure con latte in formula (209). L'analisi delle feci dei neonati ha inoltre consentito di valutare contemporaneamente i metaboliti e i batteri presenti nei campioni, dimostrando che differenze nel tipo di dieta nel primo anno di vita si riversano anche sul microbiota intestinale, oltre che sul metaboloma (210). In effetti, il microbiota intestinale, cioè l'insieme dei batteri che colonizzano l'apparato digerente, ed il metaboloma sono strettamente interconnessi, in quanto alcuni microbi potrebbero direttamente produrre o modificare delle molecole generando metaboliti. Uno studio integrato di microbiota e metabolomica potrebbe dunque fornire preziose informazioni sullo stato di salute e sull'assetto nutrizionale del bambino. L'utilizzo di feci come campione per le indagini metabolomiche è particolarmente utile per lo studio di patologie intestinali del neonato, come l'enterocolite necrotizzante (200).

È richiesta ancora molta ricerca per comprendere a pieno il ruolo della metabolomica nella fisiopatologia della malattia neonatale. Nonostante ciò, rimane uno strumento affascinante per le potenzialità che potrebbe avere nella pratica clinica.

2. SCOPO DELLO STUDIO

Con questo studio il nostro obiettivo è stato:

- Identificare i parametri clinici, biochimici e nutrizionali associati al ritardo di crescita intrauterino (IUGR);
- Valutare lo stato osseo di bambini IUGR e non IUGR ed i fattori che ne favoriscono un adeguato sviluppo;
- Valutare la crescita postnatale nei due gruppi, ricercare i fattori correlati al ritardo di crescita extrauterino e identificare marcatori di buona crescita nei pretermine IUGR;
- Confrontare il profilo metabolomico alla nascita di bambini IUGR e non IUGR.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Caratteristiche del campione

Lo studio è stato svolto presso i reparti di Terapia Intensiva Neonatale e di Patologia Neonatale dell'Azienda Ospedaliera di Padova, coinvolgendo un gruppo di 354 bambini prematuri nati tra Gennaio 2019 e Maggio 2023. Per l'inclusione nello studio era richiesto il reclutamento entro le 72 ore di vita di bambini nati prima delle 32 settimane di gestazione con necessità somministrazione di nutrizione parenterale entro le prime 72 ore di vita. Tra i criteri di esclusione configuravano invece la presenza alla nascita di malformazioni maggiori, la diagnosi di malattie metaboliche, l'insufficienza renale grave oltre le 72 ore di vita, le infezioni congenite del neonato ed il decesso entro i primi sette giorni di vita.

Ciascun bambino è stato classificato in IUGR o non-IUGR, sulla base del raggiungimento o meno del proprio potenziale di crescita durante la vita intrauterina (definizione ostetrica di *intrauterine growth restriction*). Settantacinque neonati del primo gruppo sono stati poi appaiati con un egual numero di neonati del secondo gruppo, in funzione dell'età gestazionale e del mese di nascita.

I neonati sono stati seguiti dal momento del ricovero fino alla data di dimissione; per 70 neonati il monitoraggio è inoltre proseguito fino al primo anno di età corretta, inteso come l'anno trascorso dal compimento delle 40 settimane gestazionali del bambino prematuro.

Per ciascuno di questi bambini è stata effettuata una valutazione di parametri auxologici, laboratoristici e ultrasonografici tramite QUS in diversi momenti della loro crescita: alla nascita, a 21 giorni di vita, al compimento di 36 settimane gestazionali e, per 70 bambini, a un anno di età corretta. A tali intervalli sono state eseguite misurazioni di peso corporeo (PC), lunghezza totale (LT), circonferenza cranica (CC) e lunghezza della tibia (lt). Tra i parametri auxologici sono stati inoltre indicati i giorni che aveva il bambino quando ha recuperato il peso alla nascita e quando ha raggiunto i 1800 g, oltre al minimo peso raggiunto e la massima perdita ponderale percentuale durante il ricovero. Grazie alla

misurazione del peso settimanale e alle 36 settimane gestazionali è stato possibile calcolare la velocità media di crescita settimanale fino al primo mese di vita del bambino e a 36 SG. È stato definito come ritardo di crescita un peso a 36 SG o alla dimissione inferiore al 10° percentile, calcolato tramite le curve di crescita di Fenton per il bambino prematuro (Figura 3) (211).

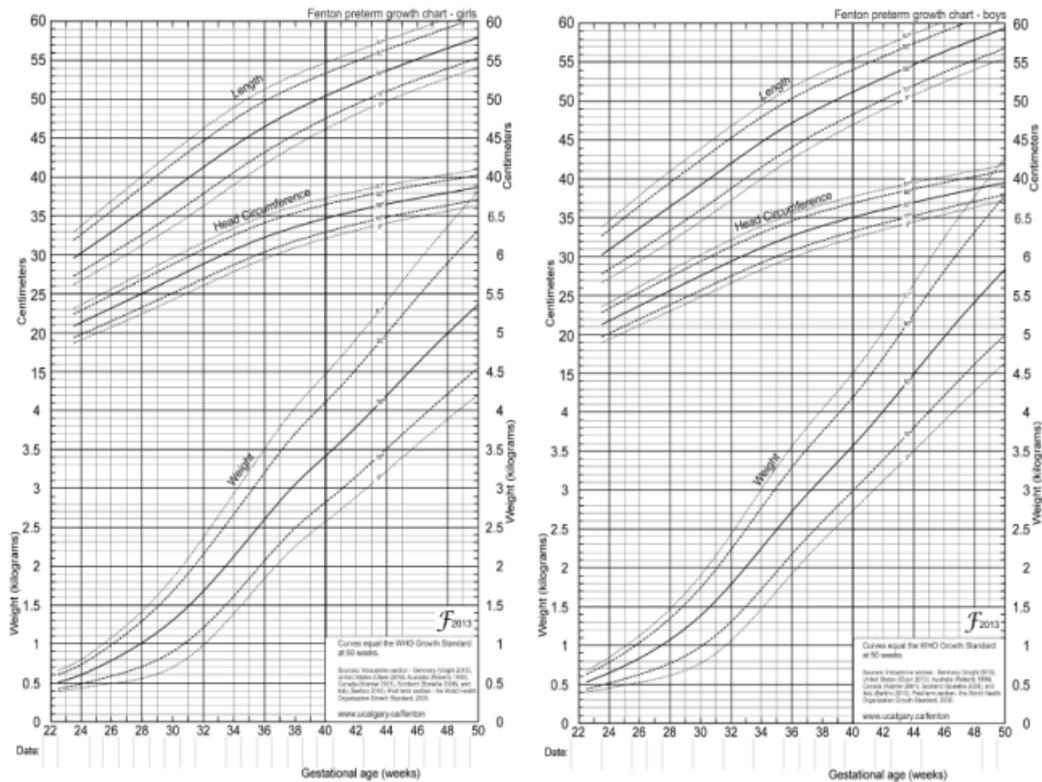


Figura 3: Curve di crescita per il neonato prematuro di sesso femminile (sinistra) e di sesso maschile (destra). Da Fenton e Kim (211)

Esami laboratoristici sono stati condotti a intervalli regolari per studiare le modificazioni in corso di tempo delle componenti ematiche dei bambini. Tra gli esami ematochimici richiesti durante lo studio si citano i livelli ematici di urea, creatinina, glucosio, trigliceridi, proteine, fosfatasi alcalina ed elettroliti quali calcio, fosfato inorganico e magnesio; l'emogasanalisi è stata dirimente nella ricerca di variazioni di pH ed eccesso di basi.

Sono state inoltre indagate alcune caratteristiche anamnestiche pre- e peri-natali dei pazienti considerate rilevanti per le finalità dello studio. Oltre a informazioni anagrafiche quali sesso, data di nascita ed età gestazionale del prematuro, sono stati raccolti dati ostetrici circa il tipo di parto (se eutocico o tramite taglio cesareo), la presenza o meno di gemellarità, l'eventuale diagnosi di IUGR,

l'eventuale rottura prematura pretermine delle membrane (pPROM) e l'assunzione di steroidi da parte della madre prima del parto, e altri dati concernenti le prime ore di vita del neonato come la somministrazione di surfattante per la sindrome da distress respiratorio, l'indice di Apgar a 5 minuti ed il CRIB score. L'indice di Apgar (212) è uno strumento che esamina la vitalità del neonato a 1, 5 e 10 minuti di vita sulla base di cinque parametri valutabili obiettivamente: la frequenza cardiaca, l'attività respiratoria, i riflessi, il tono muscolare ed il colorito del bambino. Il CRIB score (clinical risk index for babies score) (213) è indice del rischio di mortalità nel neonato, e si calcola assegnando un punteggio in funzione di peso alla nascita, età gestazionale, sesso del bambino e temperatura corporea ed eccesso di basi a un'ora dalla nascita.

È stato riportato per ciascun paziente il numero di giorni trascorsi in reparto, quindi dalla nascita fino alla dimissione. Durante questo lasso di tempo sono stati identificati ed analizzati altri fattori che potessero influenzare la crescita dei bambini, come il tipo di nutrizione, l'insorgenza di patologie legate alla prematurità ed eventuali interventi farmacologici o strumentali volti alla loro prevenzione e guarigione. Relativamente alla nutrizione, sono stati presi in esame i giorni di nutrizione parenterale totale con i relativi apporti nutrizionali ed energetici settimanali, i giorni necessari al raggiungimento dell'alimentazione enterale completa (*Full Enteral Feeding*, FEF), corrispondente all'assunzione di 150 ml/kg/die di latte, ma anche i giorni in cui il bambino è rimasto a digiuno ed il tipo di latte che questi ha assunto una volta iniziata la nutrizione enterale. Le complicanze più frequentemente associate alla prematurità sono state analizzate nei pazienti in corso di ricovero: la sindrome da distress respiratorio (RDS), la displasia broncopolmonare (BPD), la retinopatia del prematuro (ROP), l'emorragia intraventricolare (IVH), l'enterocolite necrotizzante (NEC), la pervietà del dotto di Botallo (PDA), la sepsi *early-onset* (EOS) o *late-onset* (LOS), con eventuale descrizione dell'agente causale, e la colestasi. Sono stati inoltre considerati eventuali decessi dei bambini. Sono state infine considerate le misure farmacologiche e non impiegate per trattare le condizioni morbose dei bambini in osservazione: surfattante, steroidi post-natali, caffeina, ventilazione meccanica e CPAP per il supporto della funzionalità respiratoria del paziente, inotropi per la stabilizzazione del circolo, diuretici quali furosemide ed

aldactazide, sedo-analgesici come il Fentanest e l'eventuale terapia farmacologica o chirurgica del dotto di Botallo pervio.

3.2 Nutrizione parenterale (NPT)

Tra i criteri di inclusione allo studio configura l'alimentazione entro le prime 48 ore di vita con nutrizione parenterale, somministrata ai bambini tramite catetere venoso centrale percutaneo o ombelicale.

La nutrizione parenterale è uno strumento essenziale per la sopravvivenza del neonato pretermine nel momento in cui, alla nascita e nei giorni immediatamente successivi, egli non è in grado di tollerare una nutrizione enterale sufficiente per coprirne i fabbisogni energetici e nutrizionali. Nonostante ciò, i rischi correlati alla somministrazione prolungata di una nutrizione parenterale non sono da sottovalutare, motivo per cui l'obiettivo è passare alla nutrizione enterale quanto prima possibile, in relazione alle esigenze e allo stato di salute del paziente. L'obiettivo principale di una precoce nutrizione parenterale è la prevenzione del catabolismo e la promozione dell'anabolismo nel neonato.

Nel corso dello studio per ciascun bambino sono stati calcolati gli apporti per via endovenosa di calcio, fosforo e vitamina D settimanalmente e nel primo mese di vita, e quelli di proteine settimanalmente fino a tre settimane. Sono stati inoltre riportati gli apporti totali, sia per via parenterale sia per via enterale, di idratazione e di proteine calcolati settimanalmente, di vitamina D calcolati settimanalmente e nel primo mese di vita, e di energia calcolati nella prima settimana e nel primo mese di vita.

3.3 Nutrizione enterale (NE)

La nutrizione enterale si pone come obiettivo il corretto accrescimento del bambino e va iniziata quanto più precocemente possibile. I pazienti arruolati nel nostro studio sono stati alimentati entro le prime 72 ore di vita per via enterale con ridotti volumi di liquidi (*Minimal Enteral Feeding*, MEF), a basso contenuto calorico ma in grado di stimolare la maturità gastrointestinale ed endocrino-metabolica del bambino (214). Il passaggio successivo è stato incrementare il

volume di nutrienti somministrati per via enterale fino al raggiungimento dell'alimentazione enterale completa (*Full Enteral Feeding*, FEF), che corrisponde all'assunzione di 150 ml/kg/die di latte. Si è tenuto conto per ciascun bambino dei giorni trascorsi dalla nascita prima del raggiungimento della FEF.

La prima scelta per l'inizio dell'alimentazione enterale è il latte materno in virtù della sua composizione che conferisce migliori benefici al bambino rispetto al latte in formula (215). Qualora disponibile, il latte di donatrice rappresenta un ottimo sostituto se la madre non è in grado di produrre latte. Il latte materno, tuttavia, non è in grado da solo di sopperire alle richieste nutrizionali di un neonato prematuro (216), motivo per cui, una volta raggiunti i 60-100 ml/Kg/die di nutrizione enterale, si aggiungono dei fortificanti, sostanze che vanno ad integrare i deficit nutritivi ed energetici del latte. Qualora non ci fosse la possibilità per il bambino di assumere latte materno o di donatrice, sarà necessario ricorrere al latte formula per pretermine. I giorni in cui il paziente ha ricevuto esclusivamente latte materno, i giorni in cui ha ricevuto latte misto (materno o da donatrice insieme a latte formula) e il tipo di latte somministrato al momento della dimissione sono dati che sono stati raccolti nel corso dello studio.

3.4 Misure antropometriche

I parametri auxologici dei pazienti oggetti del nostro studio sono stati misurati regolarmente durante il corso del ricovero. Ciascun bambino è stato pesato giornalmente dal primo giorno di vita fino alla dimissione tramite bilancia della termoculla *Incubator 8000 SC*® o bilancia esterna *Tassinari Bilance*® (sensibilità: 1g). Sono stati tenuti in considerazione i valori di peso a 0, 7, 14, 21, 28 giorni di vita e al compimento delle 36 settimane gestazionali, nonché il minimo peso ed il massimo decremento percentuale di peso raggiunti ed il numero dei giorni trascorsi dalla nascita per recuperare il peso alla nascita e per raggiungere i 1800 g di peso corporeo. È stata altresì calcolata la velocità media di crescita settimanale e del primo mese utilizzando le seguenti formule:

$$velocità\ di\ crescita = \frac{P2-P1}{P1 \times 0,001} \div 7 \quad g/Kg/die$$

$$\text{velocità di crescita con peso medio} = \frac{P2-P1}{\frac{P1+P2}{2} \times 0,001} \div 7 \quad \text{g/Kg/die}$$

Nelle precedenti formule, considerato un intervallo di tempo da T1 a T2, P1 e P2 rappresentano rispettivamente le misure di peso a T1 e T2.

Per calcolare invece la crescita media settimanale a 36 settimane gestazionali si è utilizzata la formula riportata di seguito, in cui P36 è il peso a 36 SG, PN è il peso alla nascita e GG36 sono i giorni di vita del bambino a 36 SG:

$$\text{velocità di crescita 36 SG} = \frac{P36-PN}{PN \times 0,001} \div \frac{GG36}{7} \quad \text{g/Kg/settimana}$$

Le misure di lunghezza totale e circonferenza cranica sono state rilevate grazie ad un metro di sensibilità di 1 mm alla nascita, a 21 giorni di vita, al compimento delle 36 settimane gestazionali e, nei bambini seguiti dopo la dimissione, al compimento di un anno di età corretta. Negli stessi intervalli temporali è stata misurata la lunghezza della tibia mediante un knemometro neonatale (Digital-Taschen-Masschieber, Messwelt, Hagen, Germany), registrando la media di tre letture per ciascuna misurazione. In occasione della visita annuale è stato rivalutato anche il peso corporeo.

3.5 Esami biochimici

Alla nascita e settimanalmente fino al 28° giorno di vita, sono stati effettuati prelievi per rilevare le concentrazioni plasmatiche di urea, creatinina, trigliceridi, proteine, fosfatasi alcalina e degli elettroliti calcio, fosfato inorganico e magnesio tramite tecnologia SMAC™, *Technicon*.

Emogasanalisi arteriose sono state richieste giornalmente nel corso di tutto il primo mese di vita ed analizzate con strumentazione 855®, *Bayer*. I dati che abbiamo estrapolato da tali analisi seriate sono: pH basale, pH medio nella prima settimana e nel primo mese di vita, minimo valore di pH riscontrato nella prima settimana di vita, eccesso di basi basale, rilevato a sette giorni e medio nella prima settimana di vita, e l'eccesso di basi più negativo durante la prima settimana.

3.6 Ultrasonografia ossea quantitativa (QUS)

L'ultrasonografia quantitativa è una tecnica ultrasonografica sviluppata nel 1984 come strumento non invasivo ed economico per valutare lo stato di salute ossea. A differenza della classica ecografia, la QUS analizza l'attenuazione dell'onda ultrasonografica attraverso la regione corporea presa in esame, permettendo la misurazione sia di proprietà qualitative dell'osso, come la mineralizzazione ossea, sia quantitative, come lo spessore della corticale, l'elasticità e la microarchitettura (217). Lo stato osseo dei bambini in studio è stato esaminato periodicamente tramite QUS per la rilevazione di eventuali cambiamenti nella struttura e morfologia ossea in corso di ricovero e per il confronto delle caratteristiche ultrasonografiche nei due gruppi di pazienti da noi considerati, IUGR e non IUGR. In particolare le misurazioni sono state effettuate per ciascun bambino entro le prime 72 ore di vita, a 21 giorni e a 36 settimane gestazionali, e per un sottogruppo di pazienti al compimento di un anno di età corretta.

Il dispositivo che ci ha permesso di effettuare tali rilevazioni è la *DBM Sonic® BONE PROFILER (IGEA, Italia)* (Figura 4). Lo strumento è dotato di un calibro regolabile manualmente con due sonde coassiali sui due rami che fungono da trasduttori per la trasmissione e la ricezione degli impulsi. La sonda che produce il fascio US genera impulsi di 1,25 MHz con una potenza di emissione di circa 1,8 mW/cm². Viene rilevata dall'oggetto la distanza tra le due sonde con una sensibilità di 0,01 mm ed il tempo intercorso tra l'emissione e la ricezione dell'onda sonora con una sensibilità di 0,05 s. In tal modo è possibile misurare i due parametri di maggior interesse: la velocità dell'onda US (m/s) ed il tempo di trasmissione ossea (μ s). Il primo indica la velocità dell'onda attraverso il mezzo, il secondo si ottiene sottraendo alla velocità dell'onda attraverso l'osso, che è maggiore, quella al passaggio nei tessuti molli, che è minore. La misurazione è stata effettuata, previa applicazione di un gel sulla pelle del bambino, posizionando le sonde volarmente e dorsalmente alla mano in corrispondenza del secondo osso metacarpale, motivo per cui si abbreviano questi parametri con mcSOS (metacarpal speed of sound) e mcBTT (metacarpal bone transmission time). La scelta del sito di misurazione è ricaduta sul secondo osso metacarpale perché comincia ad ossificare già a partire dalla nona settimana di gestazione, richiede una minima manipolazione del bambino e permette al paziente di ritrarre

la mano in qualsiasi momento durante la rilevazione senza lo sviluppo di lesioni. Ogni acquisizione, per ciascun bambino in ciascuna sessione, è stata effettuata quattro volte; la media dei valori nelle quattro misurazioni è stata considerata



come risultato finale. Sono stati poi calcolati gli Z-score di mcBTT corretti per peso ed età gestazionali.

Figura 4: Il calibro e l'unità centrale dell'apparecchio DBM Sonic© BONE PROFILER, IGEA

3.7 Metabolomica

In un sottogruppo di 34 bambini sono state eseguite indagini metabolomiche su campioni di urina; 15 di questi soggetti, IUGR, sono stati accoppiati con i restanti 19, non-IUGR, con lo scopo di identificare la diversa rappresentazione delle vie metaboliche nei due gruppi. Le urine sono state raccolte entro le prime 72 ore di vita in modo non invasivo tramite tamponi di cotone; le provette riempite di urina per almeno 2 ml di volume sono state trasferite in freezer a -20°C fino al momento del trasporto al Laboratorio di Spettrometria di Massa e Metabolomica del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino dell'Università di Padova (Fondazione Città della Speranza, Istituto di Ricerca Pediatrica), dove i campioni sono stati analizzati. Per l'analisi qualitativa e quantitativa dei metaboliti è stato utilizzato uno spettrometro di massa di tipo Quadrupole Time-of-Flight (Qtof) Synapt G2 HDMS (Waters, MS Technologies, Ltd., Manchester, U.K.), previa

loro separazione tramite Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC - Waters, U.K.). La cromatografia liquida ad alte prestazioni è stata eseguita per mezzo di una colonna analitica Acquity HSS T3 (1.7 μm , 2.1 x 100 mm) e una colonna analitica Acquity HILIC (1.7 μm , 2.1 x 100 mm) (Waters Corporation, Milford, U.S.A.), termotrate a 50°C e 40°C per migliorarne la prestazione. Per calibrare lo spettrometro di massa è stata utilizzata un'interfaccia LockSpray con 20 $\mu\text{g/L}$ di leu-encefalina. Il profilo metabolomico delle urine è stato identificato grazie ad una ionizzazione sia in positivo che in negativo. I dati sono stati raccolti in modalità continua in un range di scansione di 20-1200 m/z, con l'esecuzione di un controllo qualità tramite molecole di massa nota ogni tre rilevazioni circa, con la finalità di aumentare l'accuratezza dei risultati. I dati sono stati pre-processati tramite software Progenesis (Waters Corporation, Milford, USA). È stata poi effettuata una normalizzazione dell'intensità di segnale degli ioni per ciascun picco rilevato. Sono state effettuate un'analisi univariata ed una multivariata per l'elaborazione dei dati ottenuti nei due sottogruppi, in modo da ottenere un gruppo di variabili rilevanti da sottoporre alla successiva fase di annotazione. Sono stati così annotati i metaboliti di maggior interesse risultati dall'analisi statistica, mediante consultazione delle loro caratteristiche biochimiche, come rapporto m/z, massa neutrale e tempo di ritenzione, in database di metabolomica pubblici (Human Metabolome DataBase, <https://hmdb.ca/>; METLIN, <http://metlin.scripps.edu>) e in un database interno. Inoltre, i campioni con maggiore intensità di ioni sono stati sottoposti a rianalisi tramite Tandem Mass Spectrometry (MS/MS), che separa gli ioni in frammenti le cui proprietà rispecchiano la struttura del precursore. I metaboliti di cui esisteva già un modello di riferimento in laboratorio sono stati confrontati direttamente con lo standard in termini di rapporto massa-carica, tempo di ritenzione e frammenti degli ioni. I composti sono così stati classificati ed annotati con diversi livelli di confidenza, secondo quanto stabilito da Sumner et al. (218):

- Livello 1: metaboliti “identificati”, le cui caratteristiche corrispondono a quelle di composti standard di riferimento autentici;
- Livello 2: metaboliti “putativamente annotati”, cioè la cui identità è proposta sulla base di dati sperimentali validi e di banche dati di metaboliti noti;

- Livello 3: metaboliti di “classi di composti putativamente caratterizzate”, che presentano proprietà specifiche di un definito gruppo di composti;
- Livello 4: metaboliti “sconosciuti”, di cui è solo riproducibile e quantificabile il segnale alla spettrometria di massa o alla risonanza magnetica nucleare.

3.8 Statistica

I dati dei bambini raccolti durante lo studio sono stati inseriti in un database sul programma Microsoft Office Excel 2013® (Microsoft Corporation), e di seguito analizzati dal software NCSS 9.0 (NCSS 9 Statistical Software (2013). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA). Nella valutazione delle due popolazioni in studio si è utilizzata la media \pm DS per esprimere le variabili quantitative analizzate in corso di ricovero, mentre per il loro confronto si è utilizzato il modello T di Student a due code per variabili indipendenti. Le correlazioni tra stato osseo valutato tramite QUS e gli altri parametri in studio sono state espresse tramite coefficiente di correlazione di Pearson, ricavato dall'utilizzo di un modello lineare univariato. Per lo studio delle variabili qualitative si è utilizzato il test Chi-Quadrato con l'elaborazione di tabelle di contingenza. È stata condotta un'analisi statistica complessa denominata Multivariate Analysis of Variance (MANOVA), che ha permesso di confrontare le varianze di due gruppi, ottenute dall'applicazione di un cut-off specifico per una serie di variabili contemporaneamente, nella predizione dello stato osseo. Nelle analisi effettuate si sono considerate significative le variabili che contribuivano al modello con un p value < 0,05.

4. RISULTATI

4.1 Analisi descrittiva della popolazione

La popolazione dello studio si compone di un totale di 354 bambini, dei quali 81 con diagnosi ostetrica di IUGR e 273 senza IUGR (Tabella I), arruolati da gennaio 2019 fino a maggio 2023. La maggior parte di loro è stata seguita fino al compimento delle 36 settimane gestazionali o alla dimissione dopo il ricovero in terapia intensiva neonatale; per 70 di loro sono stati valutati i parametri antropometrici e ultrasonografici anche ad un anno di età.

Tabella I: Numero assoluto e percentuale di IUGR e non IUGR nella popolazione

	IUGR	NON IUGR	TOTALE
N (%)	81 (23%)	273 (77%)	354

Tra questi bambini 75 IUGR sono stati appaiati con 75 non-IUGR sulla base di età gestazionale e periodo della nascita, quindi sono state descritte e confrontate le caratteristiche delle due popolazioni.

In entrambi i campioni selezionati prevale il sesso femminile, con il 53% di bambine nel gruppo IUGR ed il 59% nel gruppo non-IUGR (Tabella II). L'età gestazionale media dei pazienti confrontati è di 29 settimane gestazionali (Tabella III).

Tabella II: Numero assoluto e percentuale di maschi e femmine nei gruppi IUGR e non IUGR

SESSO	IUGR	NON IUGR
F	40 (53%)	44 (59%)
M	35 (47%)	31 (41%)

Tabella III: Media \pm deviazione standard di età gestazionale nei gruppi IUGR e non IUGR

ETA' GESTAZIONALE (settimane gestazionali in decimali)	
IUGR	NON IUGR
29,1 \pm 2,1	28,9 \pm 2,0

Confrontando i parametri alla nascita nei due gruppi (Tabella IV e Tabella V) si sono osservati minore peso, lunghezza, circonferenza cranica e lunghezza della

tibia nei bambini IUGR rispetto ai non-IUGR. Inoltre, i soggetti IUGR sono più spesso *small for gestational age*, cioè hanno peso alla nascita inferiore al decimo percentile per età gestazionale (71% di SGA nel gruppo IUGR, 15% nel gruppo non-IUGR) (Tabella VI). Non si sono rilevate differenze significative per l'indice di Apgar a 5 minuti, mentre il CRIB, score di rischio clinico del neonato, è significativamente più alto nel gruppo degli IUGR.

Tabella IV: Caratteristiche alla nascita nei gruppi IUGR e non IUGR (variabili numeriche)

PARAMETRI ALLA NASCITA	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Età gestazionale (in decimali)	29,1	2,1	28,9	2,0	0,5014
Peso nascita (g)	860	260	1128	255	0,0000
Lunghezza nascita (cm)	34,3	3,9	35,9	2,9	0,0047
Circonferenza cranica nascita (cm)	25,1	2,4	26,5	2,0	0,0003
Lunghezza tibia basale (mm)	79,80	11,03	87,51	11,47	0,0012
Indice di Apgar (IA) a 5'	7,7	1,0	7,6	1,0	0,5539
CRIB score	6,88	3,17	5,09	3,38	0,0048

Tabella V: Caratteristiche alla nascita nei gruppi IUGR e non IUGR (variabili nominali; SGA: small for gestational age)

PARAMETRI ALLA NASCITA	IUGR			NON IUGR			p
	N 0	N 1	N 2	N 0	N 1	N 2	
Sesso (1=F; 2=M)		40	35		44	31	0,6219
Parto (1=eutocico; 2=TC)		2	73		6	69	0,2756
Gemellarità (0=no; 1=si)	55	20		49	26		0,3761
Primogenito (1=si; 2=no)		18	6		14	7	0,7427
SGA (0=no; 1=si)	22	53		64	11		0,0000

Tabella VI: Percentuale di SGA e AGA nei gruppi IUGR e non IUGR (SGA: small for gestational age; AGA: adequate for gestational age)

	IUGR	NON IUGR
SGA	71%	15%
AGA	29%	85%

Si sono osservate delle differenze anche per gli apporti nutrizionali ed energetici dei pazienti nei due gruppi (Tabella VII). Durante la prima settimana i bambini IUGR hanno ricevuto apporti energetici inferiori rispetto ai non IUGR, ed una

ridotta somministrazione di liquidi a 7, 14 e 21 giorni di vita. I bambini IUGR hanno ricevuto nutrizione parenterale per un periodo più lungo ed hanno impiegato più giorni per raggiungere la nutrizione enterale esclusiva. Inoltre, hanno in media avuto più giorni di digiuno durante il ricovero se confrontati con il gruppo di controllo. Non sono state invece rilevate differenze significative circa il tipo di latte somministrato nei due gruppi (Tabella VIII). La somministrazione di calcio per via endovenosa nella prima settimana è risultata inferiore nei soggetti IUGR, mentre quella di fosforo a due settimane e ad un mese è risultata superiore rispetto al gruppo di non IUGR. In media, i bambini IUGR hanno assunto dosi inferiori di vitamina D durante tutto il ricovero.

Tabella VII: Apporti nutrizionali e tipo di alimentazione nei gruppi IUGR e non IUGR (ev: endovena; wk: settimana; NPE: non proteic energy; gg: giorni; NPT: nutrizione parenterale; vitD: vitamina D)

NUTRIZIONE Variabili numeriche	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Proteine ev 1 wk (g/Kg/die)	2,76	0,51	2,68	0,64	0,4385
Proteine ev 2 wk (g/Kg/die)	2,94	0,73	2,74	0,89	0,1765
Proteine ev 3 wk (g/Kg/die)	2,59	1,11	2,57	0,82	0,9559
Media proteine 1°mese (g/Kg/die)	2,81	0,40	2,70	0,43	0,1351
Media proteine totali 1 wk (g/Kg/die)	2,97	0,57	3,00	0,46	0,7392
Media proteine totali 2 wk (g/Kg/die)	3,67	0,55	3,48	0,72	0,0818
Media proteine totali 3 wk (g/Kg/die)	3,44	0,81	3,27	0,60	0,1737
Media energia totale 1 wk (Kcal/Kg/die)	73,42	16,17	79,50	16,25	0,0320
Media energia totale 1 mese (Kcal/Kg/die)	100,98	14,88	106,37	16,90	0,0518
Idratazione totale 7gg (ml/Kg/die)	117,93	39,54	148,34	46,61	0,0001
Idratazione totale 14gg (ml/Kg/die)	137,89	40,85	160,64	44,28	0,0026
Idratazione totale 21gg (ml/Kg/die)	154,53	42,81	171,94	49,39	0,0348
Media NPE ev 1 wk (Kcal/Kg/die)	51,78	11,19	53,41	11,37	0,4029
Media NPE ev 2 wk (Kcal/Kg/die)	62,17	13,56	61,42	16,82	0,7869
Media NPE ev 3 wk (Kcal/Kg/die)	60,12	22,55	59,00	18,52	0,8095
Giorni di NPT	23,46	13,10	16,04	9,24	0,0002
Giorni di latte materno esclusivo	28,74	22,48	23,92	21,37	0,3319
Giorni di latte materno + formula	19,88	33,66	10,24	12,59	0,0871
Giorni di digiuno durante il ricovero	6,07	6,80	2,97	6,38	0,0391
Età di inizio amminoacidi (giorni)	1,03	0,36	0,93	0,26	0,0725
Giorni a 125 ml/Kg/die NE	21,04	13,30	18,41	11,81	0,2991
Giorni a 150 ml/Kg/die NE	27,13	13,86	22,45	13,34	0,0459
Calcio ev 1°wk (mmoL/Kg/die)	0,828	0,241	0,935	0,282	0,0391
Calcio ev 2° wk (mmoL/Kg/die)	0,720	0,313	0,719	0,435	0,9863
Calcio ev 3°wk (mmoL/Kg/die)	0,692	0,344	0,723	0,429	0,7820

Continuazione **Tabella VII**: Apporti nutrizionali e tipo di alimentazione nei gruppi IUGR e non IUGR (ev: endovena; wk: settimana; NPE: non proteic energy; gg: giorni; NPT: nutrizione parenterale; vitD: vitamina D)

NUTRIZIONE	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Variabili numeriche					
Calcio ev 1° mese (mmoL/Kg/die)	0,779	0,260	0,829	0,308	0,3926
Fosforo ev 1°wk (mmoL/Kg/die)	1,153	0,314	1,050	0,283	0,0776
Fosforo ev 2° wk (mmoL/Kg/die)	1,469	0,319	1,258	0,391	0,0059
Fosforo ev 3°wk (mmoL/Kg/die)	1,339	0,454	1,384	0,336	0,6600
Fosforo ev 1° mese (mmoL/Kg/die)	1,331	0,263	1,142	0,279	0,0010
VitD ev 1°wk (UI/Kg/die)	32,29	14,58	45,09	20,33	0,0001
VitD ev 2°wk (UI/Kg/die)	37,93	17,16	49,34	23,83	0,0050
VitD ev 3°wk (UI/Kg/die)	39,19	18,43	45,48	19,50	0,1580
VitD ev mese (UI/Kg/die)	39,28	16,56	46,44	19,85	0,0356
VitD totale 1°wk (UI/Kg/die)	32,027	12,416	81,231	140,047	0,0400
VitD totale 2°wk (UI/Kg/die)	88,271	117,505	328,699	306,898	0,0000
VitD totale 3° wk (UI/Kg/die)	393,082	319,688	548,762	283,024	0,0245
VitD totale mese (UI/Kg/die)	274,665	199,831	377,883	206,494	0,0211

Tabella VIII: Numero assoluto e percentuale di bambini che hanno ricevuto latte formula, latte materno e latte misto nei gruppi IUGR e non IUGR

Latte alla dimissione	IUGR	NON-IUGR	p value
Latte formula	30 (41%)	24 (36%)	0,7951
Latte materno	26 (36%)	25 (37%)	
Latte misto	17 (23%)	18 (27%)	

Molti dei parametri legati alla crescita dei bambini differiscono nei due gruppi (Tabella IX). I neonati IUGR impiegano meno tempo per recuperare il peso alla nascita, ma raggiungono un peso minimo inferiore e impiegano più giorni prima di raggiungere i 1800 g di peso. I bambini IUGR crescono ad una velocità superiore durante la prima settimana, la seconda settimana e il primo mese, anche se non clinicamente significativo. Il peso degli IUGR è risultato significativamente inferiore rispetto ai controlli a tutti gli intervalli di misurazione, anche al raggiungimento delle 36 SG e ad un anno di età, così come la lunghezza totale a 36 SG e la lunghezza della tibia a 21 giorni e a 36 SG. La lunghezza totale media del bambino IUGR a un anno è inferiore a quella dei controlli con $p=0,0518$, poco superiore al cut-off per la significatività statistica ($p=0,05$). Il 98% degli IUGR presenta ritardo di crescita in peso a 36 SG, ed il 100% di loro a 36 SG non raggiunge il decimo percentile di lunghezza totale (Tabella X). La prevalenza di ritardo di crescita risulta significativamente

superiore negli IUGR rispetto alla popolazione non-IUGR. Nella popolazione IUGR si conta anche una maggiore prevalenza di bambini con ritardo di crescita a 36 SG in termini di circonferenza cranica, anche se tale dato non è statisticamente significativo ($p=0,1844$).

Tabella IX: Parametri antropometrici e velocità di crescita nei gruppi IUGR e non IUGR (SG: settimane gestazionali; wk: settimana)

CRESCITA Variabili numeriche	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Giorni per recuperare il peso nascita	9,91	4,91	13,66	5,74	0,0000
Giorni a 1800 g di peso	60,71	21,77	45,02	19,02	0,0001
Minimo peso raggiunto (g)	750,89	211,19	965,62	235,19	0,0000
Massima perdita di peso (%)	9,74	7,57	11,55	6,39	0,1329
Peso a 7 giorni (g)	810	222	1037	262	0,0000
Peso a 14 giorni (g)	906	256	1123	273	0,0000
Peso a 21 giorni (g)	1010	277	1257	294	0,0000
Peso a 28 giorni (g)	1124	307	1371	332	0,0000
Peso a 36 SG (g)	1540	298	1939	309	0,0000
Peso a 1 anno (g)	7531	1268	9602	1497	0,0368
Lunghezza totale a 36 SG (cm)	39,51	2,99	42,69	2,35	0,0000
Lunghezza totale a 1 anno (cm)	71,50	3,79	77,90	5,20	0,0518
Circonferenza cranica a 36 SG (cm)	30,24	2,11	31,11	2,59	0,0839
Circonferenza cranica a 1 anno (cm)	44,44	1,61	46,25	2,47	0,4778
Lunghezza tibia a 21 giorni (mm)	87,9	8,1	93,4	9,1	0,0036
Lunghezza tibia a 36 SG (mm)	98,1	9,7	105,0	8,3	0,0024
Lunghezza tibia a 1 anno (mm)	181,3	17,2	176,0	29,0	0,7205
Velocità di crescita 1[^]wk (g/Kg/die)	0,13	16,79	-6,95	16,75	0,0140
Velocità media con peso medio 1[^]wk (g/Kg/die)	-4,88	14,12	-10,08	11,34	0,0178
Velocità di crescita 2[^]wk (g/Kg/die)	16,70	9,02	13,34	9,36	0,0335
Velocità media con peso medio 2[^]wk (g/Kg/die)	15,54	8,14	12,44	8,42	0,0298
Velocità di crescita 3 [^] wk (g/Kg/die)	19,23	9,52	17,50	7,80	0,2475
Velocità media con peso medio 3 [^] wk (g/Kg/die)	17,66	8,26	16,19	6,85	0,2590
Velocità di crescita 4 [^] wk (g/Kg/die)	17,95	10,40	17,09	6,82	0,5814
Velocità media con peso medio 4 [^] wk (g/Kg/die)	16,58	9,28	16,16	6,13	0,7668
Media velocità di crescita 1[^] mese (g/Kg/die)	12,42	6,11	9,78	3,63	0,0030
Velocità di crescita a 36 SG (g/Kg/wk)	132,23	45,23	111,86	40,26	0,0127

Tabella X: Numero assoluto e percentuale di bambini con ritardo di crescita in peso, lunghezza e circonferenza cranica a 36 SG nei gruppi IUGR e non IUGR (SG: settimane gestazionali)

RITARDO DI CRESCITA	IUGR		NON IUGR		p
	SI	NO	SI	NO	
Variabili nominali					
Ritardo crescita peso a 36 SG	58 (98%)	1 (2%)	37 (69%)	17 (31%)	0,0001
Ritardo di crescita lunghezza a 36 SG	48 (100%)	0 (0%)	31 (89%)	4 (11%)	0,0285
Ritardo di crescita circonferenza cranica a 36 SG	26 (62%)	16 (38%)	18 (46%)	21 (54%)	0,1844

Nel gruppo degli IUGR, gli esami ematochimici hanno rilevato una riduzione significativa delle concentrazioni ematiche di urea alla nascita e a 7 giorni, e delle concentrazioni ematiche massime di urea raggiunte nella prima settimana e nel primo mese di vita (Tabella XI). In questi bambini sono stati contati più episodi di ipertrigliceridemia nella prima settimana e nel primo mese di vita (Tabella XII). Per lo studio della mineralizzazione ossea sono stati indagati i livelli sierici di calcio, fosforo e fosfatasi alcalina (Tabella XI). Nei neonati IUGR si sono riscontrati livelli superiori di calcio basale ed una riduzione del fosforo ematico basale, a 7 e a 21 giorni dalla nascita. La fosfatasi alcalina è risultata superiore nella popolazione di riferimento allo stato basale, ma le concentrazioni plasmatiche rimangono in entrambi i gruppi entro i normali range fisiologici. Al contrario, a 21 giorni di vita i livelli di ALP sono superiori nei bambini IUGR, ma senza raggiungere la significatività statistica ($p=0,07$).

Tabella XI: Parametri biochimici nei gruppi IUGR e non IUGR (wk: settimana; SBE: eccesso di basi standard; max: massimo; SG: settimane gestazionali; ALP: fosfatasi alcalina)

LABORATORIO	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Urea basale (mmoL/L)	5,13	2,28	7,60	2,96	0,0000
Urea a 7 giorni (mmoL/L)	6,43	2,83	8,55	3,95	0,0016
Urea a 21-28 giorni (mmoL/L)	3,73	1,85	3,91	2,45	0,7028
Urea max 1[^]wk (mmoL/L)	6,85	2,96	9,70	3,79	0,0000
Urea max 1[°]mese (mmoL/L)	7,49	3,18	10,03	4,52	0,0004
pH basale	7,31	0,07	7,29	0,06	0,1544
pH medio 1 [^] wk	7,31	0,04	7,30	0,05	0,4133
pH medio 1 [°] mese	7,35	0,07	7,34	0,04	0,2241
pH minimo 1 [^] wk	7,20	0,09	7,21	0,08	0,8600
SBE basale	-4,47	3,48	-5,10	2,77	0,2487

Continuazione **Tabella XI**: Parametri biochimici nei gruppi IUGR e non IUGR (wk: settimana; SBE: eccesso di basi standard; max: massimo; SG: settimane gestazionali; ALP: fosfatasi alcalina)

LABORATORIO	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
SBE a 7 giorni	-5,42	3,70	-6,57	3,87	0,0902
SBE medio 1 [^] wk	-5,38	2,30	-6,04	2,04	0,0881
SBE più negativo 1 [^] wk	-9,50	3,27	-9,83	2,76	0,5421
Creatinina max 1 [^] wk (mmoL/L)	73,45	19,73	78,44	18,97	0,1435
Creatinina max 1[^] mese (mmoL/L)	72,38	20,22	89,50	23,67	0,0358
Protidemia basale (g/L)	43,00	5,66	43,18	5,21	0,9418
Protidemia a 7 giorni (g/L)	47,00	5,64	45,90	11,16	0,7299
Protidemia a 21-28 giorni (g/L)	47,14	6,04	48,75	5,25	0,1711
Protidemia a 36 SG (g/L)	49,87	6,92	46,50	4,93	0,1069
Calcio basale (mmoL/L)	2,22	0,24	2,05	0,28	0,0007
Fosforo basale (mmoL/L)	1,45	0,44	1,79	0,39	0,0000
Magnesio basale (mmoL/L)	0,93	0,28	0,94	0,24	0,9269
Calcio a 7 giorni (mmoL/L)	2,47	0,19	2,44	0,17	0,5493
Fosforo a 7 giorni (mmoL/L)	1,24	0,37	1,44	0,31	0,0342
Magnesio a 7 giorni (mmoL/L)	0,90	0,14	0,92	0,14	0,6334
Calcio a 21 giorni (mmoL/L)	2,46	0,13	2,44	0,22	0,7667
Fosforo a 21 giorni (mmoL/L)	1,76	0,36	1,94	0,25	0,0050
Magnesio a 21 giorni (mmoL/L)	0,86	0,11	0,88	0,11	0,5116
ALP basale (U/L)	169,69	55,50	217,00	77,89	0,0005
ALP a 21 giorni (U/L)	420,06	146,31	370,54	122,69	0,0722

Tabella XII: Numero assoluto e percentuale di episodi di ipertrigliceridemia e iperglicemia nei gruppi IUGR e non IUGR (iper-TG: ipertrigliceridemia; wk: settimana)

LABORATORIO	IUGR		NON IUGR		p
	SI	NO	SI	NO	
Episodi iper-TG 1[^]wk	19 (32%)	40 (68%)	4 (8%)	48 (92%)	0,0019
Episodi iper-TG 1[^] mese	21 (36%)	38 (64%)	7 (13%)	46 (87%)	0,0084
Episodi iperglicemici	6 (37%)	10 (63%)	4 (25%)	12 (75%)	0,7043

All'ultrasonografia quantitativa sono stati osservati valori di mc-BTT basali e a tre settimane significativamente inferiori nel gruppo degli IUGR rispetto ai non-IUGR (Tabella XIII). Gli Z-score di mc-BTT corretti per età gestazionale calcolati a 0 e a 21 giorni di vita si discostano di più dallo 0 negli IUGR rispetto ai non IUGR, viceversa per gli Z-score corretti per la lunghezza del bambino a 36 SG

(Tabella XIII). La malattia metabolica dell'osso (MBD) a 36 SG, calcolata come Z score di mc-BTT corretto per lunghezza del bambino ($Z_{mcBTT\ length} < -2$), presenta una prevalenza superiore nel gruppo di controllo (Tabella XIV). Non si sono rilevate differenze statisticamente significative nelle due popolazioni a un anno di vita.

Tabella XIII: Parametri ultrasonografici nei gruppi IUGR e non IUGR (mc-BTT: metacarpal Bone Transmission Time; Z_{mc-BTT_LENGHT} : Z score di mcBTT corretto per lunghezza; Z_{mc-BTT_TIME} : Z score di mcBTT corretto per età gestazionale; wk: settimana; SG: età gestazionale)

STATO OSSEO	IUGR		NON IUGR		
Variabili numeriche	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	p
mc-BTT basale (μs)	0,45	0,10	0,51	0,09	0,0005
Z_{mc-BTT_LENGHT} basale	-0,48	1,39	-0,11	1,54	0,1846
Z_{mc-BTT_TIME} basale	-5,36	1,54	-4,46	1,37	0,0011
mc-BTT 3[^]wk (μs)	0,43	0,08	0,46	0,09	0,0401
Z_{mc-BTT_LENGHT} 3 [^] wk	-0,83	1,15	-1,03	1,20	0,3745
Z_{mc-BTT_TIME} 3[^]wk	-5,15	1,09	-4,67	1,19	0,0294
mc-BTT 36 SG (μ s)	0,48	0,08	0,50	0,07	0,1603
Z_{mc-BTT_LENGHT} 36 SG	-1,43	0,99	-2,12	0,79	0,0004
Z_{mc-BTT_TIME} 36 SG	-4,50	0,96	-4,18	1,03	0,1348
mc-BTT 1 anno (μ s)	0,89	0,22	0,83	0,23	0,4842
Z_{mc-BTT_TIME} 1 anno	0,13	2,99	-1,86	3,36	0,4202

Tabella XIV: Numero assoluto e percentuale di bambini con osteopenia alla nascita, a tre settimane, a 36 SG e a un anno di età nei gruppi IUGR e non IUGR (osteopenia: $Z_{BTT_LENGHT} < -2$; wk: settimana; SG: settimane gestazionali)

OSTEOPENIA	IUGR		NON IUGR		
Variabili nominali	SI	NO	SI	NO	p
Osteopenia basale	9 (16%)	49 (84%)	4 (14%)	51 (86%)	0,2400
Osteopenia 3 [^] wk	12 (21%)	44 (79%)	8 (15%)	44 (85%)	0,4656
Osteopenia 36 SG	14 (29%)	35 (71%)	23 (57%)	17 (43%)	0,0092
Osteopenia 1 anno	3 (23%)	10 (77%)	2 (33%)	4 (67%)	1,0000

La valutazione delle complicanze nei due gruppi ha evidenziato un aumento statisticamente significativo per displasia broncopolmonare (BPD) a 28 giorni di vita nei bambini IUGR (Tabella XV). Un'augmentata prevalenza di displasia broncopolmonare in questo gruppo è presente anche a 36 SG, ma non viene raggiunta la significatività statistica ($p=0,0962$) (Tabella XVI).

Tabella XV: Numero assoluto di bambini con complicanze durante il ricovero nei gruppi IUGR e non IUGR (RDS: sindrome da distress respiratorio; BPD: displasia broncopolmonare; ROP: retinopatia della prematurità; IVH: emorragia intraventricolare; NEC: enterocolite necrotizzante; PDA: dotto arterioso pervio; gg: giorni; SG: settimane gestazionali)

OUTCOMES PATOLOGICI	IUGR			NON IUGR			p
	N 0	N 1	N2	N 0	N 1	N2	
Variabili nominali							
Deceduto (0=no; 1=si)	10	1		11	1		1,0000
RDS (1=si; 2=no)		69	5		64	4	1,0000
BPD 28 gg (1=si; 2=no)		32	43		19	54	0,0388
BPD 36 SG (1=si; 2=no)		15	59		6	59	0,0962
ROP (1=si; 2=no)		14	60		11	62	0,6615
IVH (1=si; 2=no)		8	67		5	70	0,5633
NEC (1=si; 2=no)		4	71		5	70	1,0000
PDA (1=si; 2=no)		35	40		40	35	0,5138
Sepsi (1=si; 2=no)		19	33		18	37	0,6901
Colestasi (1=si; 2=no)	33	14		35	10		0,4801

Tabella XVI: Numero percentuale di bambini con BPD a 28 giorni e 36 SG nei gruppi IUGR e non IUGR (BPD: displasia broncopolmonare; SG: settimane gestazionali)

BPD (%)	IUGR		NON IUGR		p
	SI	NO	SI	NO	
Variabili nominali					
BPD 28 giorni	43%	57%	26%	74%	0,0388
BPD 36 SG	20%	80%	9%	91%	0,0962

I bambini IUGR hanno fatto maggiore utilizzo di furosemide e aldactazide durante il ricovero (Tabella XVII e Tabella XVIII). La somministrazione di aldactazide è inoltre durata mediamente per più giorni in questo gruppo rispetto al gruppo di riferimento. Anche la durata di ventilazione meccanica e di c-PAP, considerati complessivamente, è stata mediamente superiore nei bambini IUGR (Tabella XIX). Non si sono osservate differenze statisticamente significative nei due gruppi in termini di somministrazione e durata di steroidi somministrati dalla nascita alla dimissione.

Tabella XVII: Numero assoluto di bambini a cui sono stati somministrati farmaci nei gruppi IUGR e non IUGR

USO DI FARMACI	IUGR		NON IUGR		p
	SI	NO	SI	NO	
Surfattante	44	31	54	21	0,1222
Steroidi	13	62	9	64	0,4899
Furosemide	19	47	7	57	0,0152
Aldactazide	22	50	9	58	0,0240
Inotropi	52	18	49	13	0,5446
Fentanest	18	24	11	27	0,2468
Trattamento PDA	28	30	25	40	0,2814

Tabella XVIII: Numero percentuale di bambini che hanno fatto uso di diuretici nei gruppi IUGR e non IUGR

USO DI DIURETICI (%)	IUGR		NON IUGR		p
	SI	NO	SI	NO	
Furosemide	29%	71%	11%	89%	0,0152
Aldactazide	31%	69%	13%	87%	0,0240

Tabella XIX: Durata di ventilazione, caffeina, furosemide, aldactazide e Fentanest, numero di dosi di surfattante e cicli di steroidi nei gruppi IUGR e non IUGR (VMI: ventilazione meccanica invasiva)

FARMACI E VENTILAZIONE	IUGR		NON IUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Surfattante (numero dosi)	1,05	1,21	0,96	0,76	0,5721
Caffeina durata (giorni)	49,07	23,19	43,90	19,49	0,1697
Steroidi (numero cicli)	0,26	0,63	0,15	0,49	0,2400
Furosemide durata (giorni)	5,71	16,18	2,83	12,07	0,2515
Aldactazide durata (giorni)	15,51	31,20	5,55	16,67	0,0191
Fentanest durata (giorni)	4,86	7,59	2,87	8,25	0,2637
VMI (giorni)	11,54	22,30	7,33	17,48	0,2080
VMI + c-PAP (giorni)	32,23	33,86	20,17	25,31	0,0201

4.2 Stato osseo e correlazione con parametri clinici

Per ciascuno dei due gruppi si è ricercata una correlazione tra parametri ultrasonografici allo stato basale, a tre settimane di vita e a 36 settimane

gestazionali con parametri alla nascita, nutrizionali, antropometrici e legati alla crescita, di laboratorio e con somministrazione e utilizzo di farmaci e ventilazione meccanica. Le tabelle che seguono riportano i risultati ottenuti nei due differenti gruppi. Non sono riportate le correlazioni con lo stato osseo a 1 anno di vita perché non significative o, se significative, contavano una numerosità troppo bassa di campioni.

Età gestazionale e peso alla nascita correlano positivamente con BTT in tutti gli intervalli di misurazione in entrambi i gruppi, ad eccezione di BTT a 36 SG negli IUGR per cui la correlazione con l'età gestazionale non è significativa (Tabella XX).

Tabella XX: Correlazioni tra età gestazionale e peso alla nascita e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali)

PARAMETRI ALLA NASCITA		IUGR			NON IUGR		
		BTT basale	BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT basale	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Età gestazionale	r	0,45	0,37	0,06	0,57	0,42	0,35
	p	0,000	0,004	0,666	0,000	0,001	0,024
Peso nascita	r	0,60	0,49	0,33	0,71	0,50	0,46
	p	0,000	0,000	0,020	0,000	0,000	0,002

Nel gruppo IUGR un aumentato apporto proteico per via endovenosa (ev) durante la seconda e la terza settimana di vita si associano rispettivamente ad un ridotto BTT a 3 settimane (BTT 3 wk) e a 36 SG e ad un ridotto BTT a 36 SG; nello stesso gruppo un aumento medio di proteine somministrate sia per via parenterale che per via enterale nel primo mese correla negativamente con il BTT 3 wk e a 36 SG. Negli IUGR un aumentato intake energetico durante la prima settimana di vita si associa ad aumentato BTT a 36 SG, mentre un aumentato intake energetico medio nel primo mese si associa ad aumentato BTT 3 wk e a 36 SG. Nei non IUGR una media superiore di introiti energetici nel primo mese si associa ad aumentato BTT 3 wk. Un incrementato BTT a 36 SG si riscontra nel caso di una più elevata media di energia non proteica ev nella prima settimana negli IUGR, e nella seconda settimana nei non IUGR (Tabella XXI).

In entrambi i gruppi il numero di giorni in nutrizione parenterale correla negativamente con i valori di BTT 3 wk e a 36 SG. Il numero di giorni impiegato per raggiungere 125 ml/Kg/die di nutrizione enterale si associa negativamente con BTT 3 wk nel gruppo di controllo. Un aumento dei giorni per raggiungere 150

ml/Kg/die di nutrizione enterale si associa ad una riduzione di BTT in tutti gli intervalli di misurazione negli IUGR. Un digiuno prolungato correla con peggiore stato osseo in termini di BTT 3 wk nel gruppo dei non IUGR (Tabella XXI).

Tabella XXI: Correlazioni tra parametri nutrizionali e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali; ev: endovena; NPE: non proteic energy; NPT: nutrizione parenterale; aa: amminoacidi)

NUTRIZIONE		IUGR		NON IUGR	
		BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Proteine ev 1 wk	r	0,02	-0,06	-0,03	0,08
	p	0,854	0,698	0,858	0,613
Proteine ev 2 wk	r	-0,29	-0,32	-0,24	-0,30
	p	0,032	0,026	0,097	0,060
Proteine ev 3 wk	r	-0,19	-0,38	-0,14	-0,24
	p	0,236	0,024	0,491	0,302
Media proteine 1 mese	r	-0,30	-0,31	-0,13	-0,11
	p	0,028	0,038	0,368	0,479
Media proteine totali 1 wk	r	0,16	0,04	-0,05	0,16
	p	0,238	0,800	0,700	0,327
Media proteine totali 2 wk	r	0,11	-0,07	0,08	-0,30
	p	0,394	0,631	0,572	0,057
Media proteine totali 3 wk	r	-0,12	-0,10	0,14	-0,14
	p	0,373	0,500	0,313	0,406
Media energia totale 1 wk	r	0,24	0,29	0,26	0,11
	p	0,071	0,040	0,060	0,496
Media energia totale 1 mese	r	0,47	0,34	0,34	0,12
	p	0,000	0,017	0,011	0,454
Idratazione totale a 1 wk	r	0,51	0,32	0,27	0,49
	p	0,000	0,024	0,047	0,001
Idratazione totale a 2 wk	r	0,43	0,29	0,45	0,34
	p	0,001	0,045	0,001	0,029
Idratazione totale a 3 wk	r	0,45	0,23	0,51	0,28
	p	0,001	0,109	0,000	0,075
Media NPE ev 1 wk	r	0,06	0,29	0,12	-0,14
	p	0,629	0,046	0,370	0,385
Media NPE ev 2 wk	r	0,00	-0,09	0,09	-0,39
	p	0,985	0,544	0,537	0,012
Media NPE ev 3 wk	r	-0,08	-0,15	0,05	-0,47
	p	0,603	0,393	0,814	0,032
Giorni di NPT	r	-0,43	-0,46	-0,30	-0,33
	p	0,001	0,001	0,027	0,032
Giorni inizio aa	r	-0,07	0,07	-0,06	-0,02
	p	0,616	0,659	0,683	0,889
Giorni a 125 ml/Kg	r	-0,28	-0,25	-0,40	-0,32
	p	0,066	0,122	0,013	0,077
Giorni a 150 ml/Kg	r	-0,44	-0,42	-0,22	-0,15
	p	0,001	0,004	0,104	0,360
Giorni di digiuno durante il ricovero	r	-0,21	-0,28	-0,40	-0,32
	p	0,232	0,168	0,027	0,191

La somministrazione ev di vitamina D nella prima settimana, nella seconda settimana e nel primo mese di vita correla positivamente con BTT 36 SG negli

IUGR. La somministrazione totale di vitamina D durante la prima settimana correla positivamente con BTT 3 wk negli IUGR. La vitamina D ev nella prima settimana e totale nella seconda settimana correlano positivamente con BTT 36 SG nei non IUGR (Tabella XXII).

Tabella XXII: Correlazioni tra somministrazione di minerali e vitamina D e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali; ev: endovena; vitD: vitamina D; tot: totale)

SUPPLEMENTO DI MINERALI E VITAMINA D		IUGR		NON IUGR	
		BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Calcio ev 1 wk	r	0,18	0,22	0,11	0,00
	p	0,228	0,179	0,476	0,990
Calcio ev 2 wk	r	0,08	0,00	0,13	-0,22
	p	0,620	0,978	0,429	0,225
Calcio ev 3 wk	r	-0,24	-0,11	0,04	-0,05
	p	0,214	0,616	0,860	0,850
Calcio ev 1 mese	r	0,15	0,19	0,13	-0,01
	p	0,342	0,256	0,434	0,966
Fosfato ev 1 wk	r	-0,02	0,12	0,33	0,26
	p	0,910	0,457	0,023	0,131
Fosfato ev 2 wk	r	-0,24	-0,26	-0,17	-0,28
	p	0,101	0,111	0,278	0,106
Fosfato ev 3 wk	r	-0,36	-0,43	-0,13	-0,21
	p	0,048	0,030	0,573	0,425
Fosfato ev 1 mese	r	-0,21	-0,03	0,16	0,01
	p	0,178	0,848	0,326	0,975
Vit D ev 1 wk	r	0,29	0,69	0,04	0,48
	p	0,185	0,000	0,849	0,023
Vit D tot. ev 2 wk	r	0,24	0,61	0,12	0,34
	p	0,268	0,002	0,600	0,130
Vit D tot. ev 3 wk	r	0,08	0,42	0,23	-0,05
	p	0,747	0,064	0,402	0,868
Vit D tot. ev 1 mese	r	0,21	0,61	0,04	0,42
	p	0,345	0,002	0,856	0,060
Vit D tot 1 wk	r	0,35	0,09	-0,07	0,39
	p	0,050	0,667	0,691	0,096
Vit D tot 2 wk	r	-0,07	0,18	0,30	0,48
	p	0,701	0,402	0,089	0,028
Vit D tot 3 wk	r	0,30	0,32	0,11	0,33
	p	0,087	0,105	0,522	0,119
Vit D tot 1 mese	r	0,14	0,20	0,25	0,36
	p	0,387	0,293	0,146	0,071

Tra gli IUGR un aumentato peso a 36 SG correla positivamente con BTT a 36 SG. In entrambi i gruppi i bambini con maggiore lunghezza a 36 SG presentano maggiore BTT a 36 SG. Una tibia più lunga alla nascita si associa a migliore stato osseo del neonato IUGR allo stato basale in termini di BTT. In questi bambini si osserva un'associazione positiva tra lunghezza basale della tibia e BTT 3 wk e tra lunghezza della tibia a 21 giorni e a 36 SG e BTT a 36 SG. Nel gruppo di

controllo si osserva una correlazione positiva tra lunghezza basale della tibia e BTT a 36 SG e tra lunghezza della tibia a 21 giorni e BTT 3 wk (Tabella XXIII).

Tabella XXIII: Correlazioni tra parametri antropometrici e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali)

PARAMETRI ANTROPOMETRICI		IUGR			NON IUGR		
		BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Peso a 36 SG	r	/	/	0,54	/	/	0,20
	p	/	/	0,000	/	/	0,225
Lunghezza totale a 36 SG	r	/	/	0,36	/	/	0,36
	p	/	/	0,013	/	/	0,024
Circonferenza cranica a 36 SG	r	/	/	0,14	/	/	0,22
	p	/	/	0,378	/	/	0,181
Tibia basale	r	0,59	0,34	0,19	0,25	-0,03	0,48
	p	0,000	0,024	0,249	0,093	0,851	0,006
Tibia a 21 giorni	r	/	0,27	0,35	/	0,38	0,34
	p	/	0,072	0,038	/	0,012	0,062
Tibia a 36 SG	r	/	/	0,43	/	/	0,09
	p	/	/	0,010	/	/	0,645

In entrambi i gruppi si descrive una correlazione negativa tra BTT 3 wk e a 36 SG con il periodo di tempo trascorso dalla nascita al raggiungimento di 1800 g e una correlazione positiva tra gli stessi parametri ultrasonografici ed il minimo peso raggiunto. Nel gruppo di non IUGR il BTT 3 wk correla negativamente anche con i giorni impiegati per recuperare il peso alla nascita (Tabella XXIV).

Tabella XXIV: Correlazioni tra parametri associati alla crescita e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali)

CRESCITA		IUGR		NON IUGR	
		BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Giorni recupero peso nascita	r	0,12	0,09	-0,27	-0,08
	p	0,353	0,544	0,049	0,616
Giorni a 1800 g	r	-0,54	-0,52	-0,40	-0,44
	p	0,000	0,000	0,007	0,005
Minimo peso raggiunto	r	0,52	0,34	0,51	0,43
	p	0,000	0,016	0,000	0,006
Massima perdita di peso	r	0,13	0,01	-0,08	0,03
	p	0,319	0,948	0,548	0,867
Velocità di crescita 1 wk	r	-0,38	-0,08	-0,07	-0,34
	p	0,003	0,587	0,599	0,032
Velocità di crescita 2 wk	r	0,24	-0,04	0,14	0,01
	p	0,065	0,789	0,323	0,961
Velocità di crescita 3 wk	r	-0,23	-0,32	0,18	-0,07
	p	0,086	0,027	0,186	0,644
Velocità di crescita 4 wk	r	-0,09	-0,14	0,06	0,37
	p	0,535	0,342	0,700	0,018
Media velocità di crescita 1 mese	r	-0,09	-0,27	0,24	0,19
	p	0,493	0,063	0,097	0,225
Velocità crescita settimanale 36 SG	r	-0,38	0,07	-0,15	-0,26
	p	0,006	0,636	0,364	0,114

Nel gruppo non IUGR si osserva una correlazione negativa tra BTT 3 wk e urea a 21-28 giorni e massimo livello di urea nella prima settimana e nel primo mese di vita. Una correlazione positiva si può notare tra eccesso di basi (SBE) alla nascita e BTT basale e 3 wk nel gruppo IUGR (Tabella XXV).

Tabella XXV: Correlazioni tra parametri biochimici e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali; SBE: eccesso di basi standard)

PARAMETRI DI LABORATORIO		IUGR			NON IUGR		
		BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Urea basale	r	0,13	-0,05	-0,02	-0,15	-0,19	-0,07
	p	0,389	0,720	0,926	0,323	0,201	0,702
Urea a 7 giorni	r	/	0,04	-0,02	/	-0,35	-0,11
	p	/	0,775	0,882	/	0,014	0,527
Urea a 21-28 giorni	r	/	-0,29	-0,16	/	-0,39	-0,08
	p	/	0,063	0,323	/	0,020	0,683
Massima urea 1 wk	r	/	-0,07	0,00	/	-0,27	-0,15
	p	/	0,623	0,983	/	0,041	0,356
Massima urea 1 mese	r	/	-0,11	-0,14	/	-0,28	-0,17
	p	/	0,404	0,331	/	0,042	0,282
pH basale	r	-0,02	0,16	0,25	-0,21	-0,08	0,02
	p	0,873	0,230	0,083	0,127	0,574	0,898
pH medio 1 wk	r	/	0,16	0,02	/	0,24	0,11
	p	/	0,235	0,889	/	0,078	0,506
pH medio 1 mese	r	/	-0,13	-0,19	/	0,15	0,10
	p	/	0,363	0,194	/	0,273	0,538
Minimo pH 1 wk	r	/	0,18	0,12	/	-0,04	-0,02
	p	/	0,190	0,425	/	0,772	0,885
SBE basale	r	0,29	0,43	0,27	0,00	0,02	-0,03
	p	0,029	0,001	0,061	0,982	0,864	0,848
SBE a 7 giorni	r	/	-0,01	-0,11	/	0,21	-0,09
	p	/	0,925	0,466	/	0,132	0,590
SBE media 1 wk	r	/	0,03	-0,09	/	0,26	-0,08
	p	/	0,808	0,531	/	0,057	0,633
SBE più negativo 1 wk	r	/	0,14	0,09	/	-0,03	-0,13
	p	/	0,288	0,559	/	0,815	0,413
Massima creatinina 1 wk	r	/	-0,28	-0,12	/	-0,33	-0,22
	p	/	0,035	0,409	/	0,012	0,156
Protidemia 21-28 giorni	r	/	0,07	0,13	/	0,27	0,05
	p	/	0,645	0,420	/	0,100	0,794
Protidemia a 36 SG	r	/	/	0,02	/	/	-0,19
	p	/	/	0,953	/	/	0,619

Alla nascita esiste una correlazione positiva tra i livelli ematici di fosfato e di ALP con la salute ossea del bambino IUGR. L'aumentato fosfato plasmatico basale si associa anche a maggiore BTT a 36SG nei bambini IUGR, mentre a 21 giorni di vita si associa ad un aumento di quasi tutti i parametri ultrasonografici in entrambi i gruppi di bambini. I livelli di ALP a 21 giorni correlano negativamente con lo stato osseo in termini di BTT 3 wk nei due gruppi (Tabella XXVI).

Tabella XXVI: Correlazioni tra concentrazioni ematiche di minerali e ALP e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali; Ca: calcio; P: fosforo; Mg: magnesio; ALP: fosfatasi alcalina)

MINERALI E ALP		IUGR			NON IUGR		
		BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT bas	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Ca basale	r	-0,08	-0,12	-0,22	-0,07	0,11	-0,12
	p	0,591	0,413	0,174	0,619	0,461	0,464
P basale	r	0,35	0,28	0,34	0,22	0,20	0,08
	p	0,018	0,052	0,029	0,113	0,163	0,643
Mg basale	r	0,22	0,08	0,17	0,22	0,22	0,37
	p	0,133	0,570	0,297	0,128	0,121	0,024
Ca 1 wk	r	/	-0,07	-0,15	/	0,36	-0,39
	p	/	0,730	0,457	/	0,052	0,053
P 1 wk	r	/	0,28	0,20	/	0,22	0,30
	p	/	0,162	0,338	/	0,251	0,151
Mg 1 wk	r	/	0,01	0,28	/	0,09	0,15
	p	/	0,958	0,173	/	0,623	0,466
Ca a 21 giorni	r	/	-0,08	0,13	/	0,18	-0,25
	p	/	0,639	0,452	/	0,267	0,157
P a 21 giorni	r	/	0,18	0,36	/	0,45	0,48
	p	/	0,249	0,031	/	0,003	0,004
Mg a 21 giorni	r	/	-0,30	-0,15	/	-0,05	-0,11
	p	/	0,057	0,392	/	0,756	0,549
ALP basale	r	0,39	0,23	0,43	-0,08	-0,06	-0,03
	p	0,008	0,126	0,006	0,590	0,665	0,859
ALP a 21 giorni	r	/	-0,31	-0,05	/	-0,31	-0,30
	p	/	0,043	0,790	/	0,033	0,072

Una prolungata ventilazione meccanica invasiva si associa ad un minore BTT 3 wk nei bambini IUGR. In entrambi i gruppi l'incremento complessivo di giorni di ventilazione meccanica invasiva e cPAP è correlato negativamente con BTT 3 wk, nel gruppo non IUGR anche con BTT a 36 SG. La durata di Fentanest nel gruppo non IUGR correla negativamente con BTT 3 wk (Tabella XXVII).

Tabella XXVII: Correlazioni tra durata di ventilazione, furosemide e Fentanest e BTT (wk: settimana; SG: settimane gestazionali; VMI: ventilazione meccanica invasiva)

FARMACI E VENTILAZIO-NE		IUGR		NON IUGR	
		BTT 3 wk	BTT 36 SG	BTT 3 wk	BTT 36 SG
Giorni VMI	r	-0,29	-0,23	-0,19	-0,27
	p	0,027	0,108	0,156	0,088
Giorni VMI + cPAP	r	-0,36	-0,19	-0,31	-0,36
	p	0,006	0,191	0,021	0,021
Giorni furosemide	r	-0,23	-0,27	-0,18	-0,25
	p	0,102	0,078	0,192	0,116
Giorni Fentanest	r	-0,26	-0,20	-0,53	-0,37
	p	0,135	0,318	0,002	0,134

Per alcune variabili significativamente correlate con BTT a 36 SG, riportate in Tabella XXVIII, sono stati calcolati dei cut-off per valutare se valori superiori o

inferiori a tali soglie fossero predittivi di un migliore o peggiore stato osseo a 36 SG. Selezionando per la media di energia totale nella prima settimana e nel primo mese un cut-off rispettivamente di 76,9 e 105,6 Kcal/Kg/die, si sono rilevati valori di BTT a 36 SG significativamente ridotti nel gruppo che aveva assunto introiti energetici inferiori al valore soglia. Bambini che hanno raggiunto un peso minimo inferiore a 860 g o a cui è stata somministrata nutrizione parenterale per più di 16 giorni presentano un BTT a 36 SG più basso. Con dei cut-off di vitamina D somministrata per via endovenosa di 36,6, 38,7 e 41,5 UI/Kg/die rispettivamente a una settimana, due settimane e un mese, una supplementazione inferiore al valore soglia si associa a peggiore stato osseo in termini di BTT a 36 SG. Lo stesso dicasi per misure di lunghezza della tibia a 21 giorni inferiori a 91 mm.

Tabella XXVIII: Correlazione tra parametri nutrizionali, antropometrici e biochimici e BTT a 36 SG nella popolazione di bambini accoppiati. Si osservi come i parametri sopra o sotto un determinato cut-off influenzino lo stato osseo (SG: settimane gestazionali; NPT: nutrizione parenterale; vitD: vitamina D; ev: endovena; wk: settimana; ALP: fosfatasi alcalina)

	Cut-off	Media BTT 36 SG (μ s)	St. error BTT 36 SG (μ s)	p value
Media energia totale 1 wk (Kcal/Kg/die)	<76,9	0,47	0,01	0,0387
	\geq 76,9	0,50	0,01	
Media energia totale 1 mese (Kcal/Kg/die)	<105,6	0,47	0,01	0,0169
	\geq 105,6	0,51	0,01	
Minimo peso raggiunto (g)	<860	0,46	0,01	0,0000
	\geq 860	0,52	0,01	
Giorni di NPT	<16	0,53	0,01	0,0001
	\geq 16	0,46	0,01	
VitD ev 1°wk (UI/Kg/die)	<36,6	0,45	0,01	0,0001
	\geq 36,6	0,52	0,01	
VitD ev 2°wk (UI/Kg/die)	<38,7	0,46	0,01	0,0094
	\geq 38,7	0,51	0,01	
VitD ev mese (UI/Kg/die)	<41,5	0,46	0,01	0,0019
	\geq 41,5	0,51	0,01	
Fosforo basale (mmol/L)	<1,68	0,49	0,01	0,9990
	\geq 1,68	0,49	0,02	
Fosforo a 21 giorni (mmol/L)	<1,84	0,48	0,01	0,7464
	\geq 1,84	0,48	0,01	
ALP a 21 giorni (U/L)	<401	0,49	0,01	0,2552
	\geq 401	0,47	0,01	
Lunghezza tibia a 21 giorni (mm)	<91	0,47	0,01	0,0008
	\geq 91	0,53	0,01	

Grazie all'analisi multivariata della varianza (MANOVA) è stato possibile creare un modello per la predizione dello stato osseo a 36 SG (Tabella XXIX) sulla base dei parametri risultati statisticamente significativi dalla precedente analisi; i giorni di NPT, la vitamina D somministrata per via endovenosa e la lunghezza della tibia

a 21 giorni sono i migliori parametri per predire il BTT a 36 SG. I coefficienti di regressione riportati in Tabella XXIX indicano la forza e la direzione dell'effetto di ciascuna variabile indipendente sulla variabile dipendente. Dalla nostra analisi risulta che è possibile predire il BTT, e quindi lo stato osseo, a 36 SG utilizzando il seguente modello:

$$\text{BTT}_{36\text{SG}} = 0.4962 - 0.0569 * (\text{gg NPT}) + 0.0401 * (\text{VitD ev 1wk}) + 0.0421 * (\text{tibia 21 gg}).$$

Una scarsa assunzione di vitamina D, una ridotta lunghezza della tibia e una lunga durata di nutrizione parenterale si associano a peggiore stato osseo a 36 SG.

Tabella XXIX: Risultati di MANOVA per la predizione di BTT a 36 SG nella popolazione di bambini accoppiati. Le variabili indipendenti in grado di predire lo stato osseo a 36 SG sono la media di energia totale nella prima settimana, la vitamina D ev nella prima settimana e la lunghezza della tibia a 21 giorni (wk: settimana; NPT: nutrizione parenterale; vitD: vitamina D; ev: endovena)

	Coefficiente di regressione	Errore standard	Prob. level	Power ($\alpha=0.05$)
Intercetta	0,4962	0,0221	/	/
Media energia totale 1 wk (Kcal/Kg/die)	0,0094	0,0205	0,5165	0,0983
Giorni di NPT	-0,0569	0,0194	0,0041	0,8377
VitD ev 1°wk (UI/Kg/die)	0,0401	0,0200	0,0268	0,6090
Lunghezza tibia a 21 giorni (mm)	0,0421	0,0186	0,0302	0,5901

4.3 Fattori associati a buona o cattiva crescita del prematuro

All'interno della popolazione di bambini appaiati abbiamo ricercato quali tra alcuni parametri selezionati potessero influenzare l'insorgenza di EUGR, definito come peso a 36 SG o alla dimissione inferiore al decimo percentile. In Tabella XXX sono riportati i parametri studiati mettendo in evidenza le differenze significative tra EUGR e non EUGR. I bambini EUGR presentavano minore peso alla nascita. Hanno inoltre ricevuto apporti proteici minori durante la prima settimana, e intake energetici e di liquidi inferiori durante tutto il primo mese di vita. Gli EUGR sono stati alimentati più a lungo con nutrizione parenterale ed hanno impiegato più giorni per raggiungere i 125 ml/Kg/die di nutrizione enterale e la nutrizione enterale esclusiva. Hanno anche impiegato un minor tempo per recuperare il peso alla nascita ed un tempo maggiore per raggiungere un peso di 1800 g. Il minimo peso raggiunto durante il ricovero è risultato inferiore negli EUGR rispetto ai non EUGR. Infine, si sono riscontrati livelli di fosforo basali e a

7 giorni di vita significativamente ridotti negli EUGR, e concentrazioni ematiche di ALP inferiori nello stesso gruppo alla nascita.

Tabella XXX: Parametri antropometrici, nutrizionali e biochimici nei gruppi EUGR e non EUGR (ev: endovena; wk: settimana; gg: giorni; NPE: non proteic energy; NPT: nutrizione parenterale; NE: nutrizione enterale; ALP: fosfatasi alcalina)

Variabili studiate	EUGR		NON EUGR		p
	Media	Dev.St.	Media	Dev.St.	
Età gestazionale (in decimali)	29,14	2,11	28,58	1,64	0,1206
Peso nascita (g)	947,87	283,88	1168,84	246,37	0,0001
Proteine ev 1 wk (g/Kg/die)	2,73	0,55	2,67	0,67	0,6484
Proteine ev 2 wk (g/Kg/die)	2,92	0,78	2,55	0,87	0,0789
Proteine ev 3 wk (g/Kg/die)	2,61	1,05	2,38	0,71	0,3742
Media proteine 1° mese (g/Kg/die)	2,78	0,42	2,68	0,41	0,3070
Media proteine totali 1 wk (g/Kg/die)	2,94	0,53	3,17	0,44	0,0242
Media proteine totali 2 wk (g/Kg/die)	3,58	0,67	3,59	0,50	0,9341
Media proteine totali 3 wk (g/Kg/die)	3,39	0,75	3,25	0,63	0,3300
Media energia totale 1 wk (Kcal/Kg/die)	73,84	16,36	85,73	13,18	0,0002
Media energia totale 1 mese (Kcal/Kg/die)	101,46	14,81	111,30	18,23	0,0109
Idratazione totale 7gg (ml/Kg/die)	124,93	41,52	159,69	49,63	0,0013
Idratazione totale 14gg (ml/Kg/die)	139,94	39,64	180,74	44,15	0,0001
Idratazione totale 21gg (ml/Kg/die)	155,27	41,89	192,43	53,43	0,0023
Media NPE ev 1 wk (Kcal/Kg/die)	51,86	11,48	55,13	10,25	0,1455
Media NPE ev 2 wk (Kcal/Kg/die)	61,64	14,94	62,75	15,86	0,7656
Media NPE ev 3 wk (Kcal/Kg/die)	60,32	21,40	55,70	18,55	0,4644
Giorni di NPT	21,34	12,60	14,26	6,67	0,0001
Giorni a 125 ml/Kg/die NE	20,73	13,09	15,07	8,89	0,0457
Giorni a 150 ml/Kg/die NE	26,91	14,30	17,47	8,23	0,0000
Giorni di digiuno durante il ricovero	5,20	6,14	3,05	8,19	0,2803
Giorni per recuperare il peso nascita	11,26	5,72	13,74	4,99	0,0209
Giorni a 1800 g di peso	56,28	21,75	38,05	15,28	0,0001
Minimo peso raggiunto (g)	808,04	230,32	1023,28	235,02	0,0001
Massima perdita di peso (%)	10,65	6,90	10,50	7,71	0,9210
Fosforo basale (mmol/L)	1,51	0,43	1,97	0,33	0,0000
Fosforo a 7 giorni (mmol/L)	1,30	0,37	1,49	0,24	0,0487
Fosforo a 21 giorni (mmol/L)	1,82	0,34	1,95	0,25	0,0691
ALP basale (U/L)	178,48	63,20	238,42	76,88	0,0009
ALP a 21 giorni (U/L)	401,49	139,50	376,18	128,35	0,4299

Poiché la quasi totalità dei bambini IUGR in studio presentava EUGR a 36 SG o alla dimissione, si sono ricercati i fattori associati a peso inferiore (EUGR_{1%}) o superiore (non EUGR_{1%}) al primo percentile per età gestazionale nella popolazione di IUGR. La stessa analisi è stata effettuata anche sulla popolazione generale di 150 bambini appaiati.

Nella popolazione generale tutti i parametri antropometrici valutati alla nascita erano significativamente inferiori nel gruppo EUGR_{1%}. Un simile trend si osserva

anche nella popolazione di IUGR, con l'eccezione della circonferenza cranica per cui non c'è differenza significativa tra i gruppi EUGR_{1%} e non EUGR_{1%} (Tabella XXXI).

Tabella XXXI: Parametri alla nascita nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione

PARAMETRI ALLA NASCITA	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %		p	> 1 %		< 1 %		p
	μ	DS	μ	DS		μ	DS	μ	DS	
Età gestazionale (in decimali)	28,93	1,90	29,13	2,18	0,561	28,85	2,05	29,27	2,06	0,409
Peso nascita (g)	1115	265	855	255	0,000	972	252	812	253	0,014
Lunghezza nascita (cm)	36,22	2,76	33,74	3,82	0,000	35,64	3,46	33,63	3,91	0,032
Circonferenza cranica nascita (cm)	26,23	1,93	25,21	2,69	0,012	25,66	2,12	24,81	2,56	0,139
Lunghezza tibia basale (mm)	87,41	10,62	78,53	11,23	0,000	85,64	7,30	77,77	11,79	0,004

Nella popolazione totale i bambini con EUGR_{1%} hanno ricevuto in media apporti energetici inferiori nella prima settimana e nel primo mese di vita, e nella prima settimana anche in termini di energia non proteica. I bambini IUGR con EUGR_{1%} hanno ricevuto meno liquidi nella prima settimana di vita, e nella popolazione generale anche nella seconda e terza settimana. Negli EUGR_{1%}, nel gruppo totale di neonati, in media è stata somministrata meno vitamina D durante tutto il primo mese. Gli EUGR_{1%} inoltre sono rimasti a digiuno per periodi più prolungati durante il ricovero, hanno proseguito più a lungo la nutrizione parenterale e hanno impiegato più giorni per raggiungere 150 ml/Kg/die di nutrizione enterale; queste ultime due osservazioni sono valide anche per il gruppo EUGR_{1%} nella popolazione di IUGR (Tabella XXXII).

Tabella XXXII: Parametri nutrizionali nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (ev: endovena; wk: settimana; NPE: non proteic energy; NPT: nutrizione parenterale; NE: nutrizione enterale; VitD: vitamina D)

NUTRIZIONE	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %		p	> 1 %		< 1 %		p
	μ	DS	μ	DS		μ	DS	μ	DS	
Proteine ev 1 wk (g/Kg/die)	2,73	0,62	2,71	0,53	0,784	2,80	0,44	2,74	0,54	0,631
Proteine ev 2 wk (g/Kg/die)	2,80	0,83	2,90	0,78	0,504	3,04	0,59	2,90	0,78	0,422

Continuazione **Tabella XXXII**: Parametri nutrizionali nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° p. a 36 SG o alla dimissione (ev: endovena; wk: settimana; NPE: non proteic energy; NPT: nutrizione parenterale; NE: nutrizione enterale; VitD: vitamina D)

NUTRIZIONE	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %		p	> 1 %		< 1 %		p
	μ	DS	μ	DS		μ	DS	μ	DS	
Proteine ev 3 wk (g/Kg/die)	2,45	0,92	2,68	1,07	0,305	2,44	1,12	2,64	1,12	0,576
Media proteine 1°mese (g/Kg/die)	2,74	0,38	2,78	0,46	0,566	2,82	0,33	2,81	0,43	0,957
Media proteine totali 1 wk (g/Kg/die)	3,06	0,50	2,91	0,53	0,098	3,06	0,62	2,93	0,55	0,390
Media proteine totali 2 wk (g/Kg/die)	3,54	0,64	3,62	0,64	0,487	3,76	0,43	3,63	0,60	0,327
Media proteine totali 3 wk (g/Kg/die)	3,31	0,67	3,43	0,78	0,339	3,44	0,76	3,45	0,84	0,979
Media energia totale 1 wk (Kcal/Kg/die)	81,06	16,28	70,99	15,01	0,000	78,06	16,72	71,30	15,62	0,117
Media energia totale 1 mese (Kcal/Kg/die)	107,8	15,2	98,7	15,7	0,001	104,6	11,4	99,2	15,9	0,089
Idratazione totale 7gg (ml/Kg/die)	149,7	46,1	113,0	36,4	0,000	134,7	43,1	110,2	35,7	0,026
Idratazione totale 14gg (ml/Kg/die)	162,9	45,6	132,8	35,9	0,000	150,1	47,5	132,1	36,5	0,125
Idratazione totale 21gg (ml/Kg/die)	177,8	48,4	146,1	38,8	0,000	168,3	43,8	148,1	41,2	0,077
Media NPE ev 1 wk (Kcal/Kg/die)	54,67	12,63	50,16	8,98	0,017	55,59	13,84	50,03	9,41	0,098
Media NPE ev 2 wk (Kcal/Kg/die)	62,48	16,06	61,20	14,08	0,638	64,58	12,73	61,11	13,91	0,317
Media NPE ev 3 wk (Kcal/Kg/die)	56,54	20,02	62,21	21,62	0,225	57,44	20,94	61,16	23,35	0,590
Giorni di NPT	15,69	7,99	24,70	13,89	0,000	19,41	10,11	25,29	13,95	0,050
Giorni a 150 ml/Kg/die	20,99	11,43	29,37	14,92	0,000	22,14	10,47	29,42	14,69	0,022
Giorni di digiuno	3,15	6,36	6,88	6,80	0,016	3,79	5,78	7,17	7,08	0,105
Calcio ev 1°wk (mmol/Kg/die)	0,92	0,27	0,83	0,25	0,082	0,86	0,19	0,81	0,25	0,455
Calcio ev 2° wk (mmol/Kg/die)	0,69	0,38	0,77	0,36	0,277	0,66	0,28	0,75	0,32	0,262
Calcio ev 3°wk (mmol/Kg/die)	0,72	0,40	0,71	0,34	0,902	0,72	0,38	0,70	0,33	0,853
Calcio ev 1° mese (mmol/Kg/die)	0,82	0,28	0,79	0,29	0,661	0,77	0,23	0,79	0,26	0,702
Fosforo ev 1°wk (mmol/Kg/die)	1,11	0,27	1,11	0,32	0,994	1,15	0,26	1,14	0,32	0,976
Fosforo ev 2° wk (mmol/Kg/die)	1,31	0,42	1,45	0,32	0,064	1,45	0,36	1,47	0,33	0,822
Fosforo ev 3°wk (mmol/Kg/die)	1,36	0,38	1,37	0,44	0,885	1,31	0,46	1,37	0,45	0,711
Fosforo ev 1° mese (mmol/Kg/die)	1,20	0,26	1,30	0,30	0,064	1,29	0,24	1,34	0,28	0,496
VitD totale 1°wk (UI/Kg/die)	69,48	123,1	30,57	14,38	0,033	31,84	9,60	31,06	14,11	0,832
VitD totale 2°wk (UI/Kg/die)	281,4	291,8	81,4	115,4	0,000	117,2	155,9	84,8	122,1	0,501
VitD totale 3° wk (UI/Kg/die)	527,1	285,0	349,9	329,5	0,013	467,1	297,0	353,2	333,7	0,246
VitD totale mese (UI/Kg/die)	358,6	184,5	268,4	223,9	0,044	307,0	146,7	259,9	221,0	0,381

I bambini EUGR_{1%} nella popolazione generale impiegano meno giorni per recuperare il peso alla nascita, ma più giorni per raggiungere i 1800 g di peso. Raggiungono inoltre un peso minimo inferiore durante il ricovero e, ad eccezione della circonferenza cranica, presentano parametri antropometrici significativamente inferiori in tutti gli intervalli di misurazione fino alle 36 SG. La velocità di crescita in questi bambini è superiore durante la prima settimana di vita rispetto ai non EUGR_{1%}. La maggior parte di queste associazioni sono valide anche per i neonati EUGR_{1%} della popolazione IUGR (Tabella XXXIII).

Tabella XXXIII: Parametri antropometrici e velocità di crescita nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (wk: settimana)

CRESCITA	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %		p	> 1 %		< 1 %		p
	μ	DS	μ	DS		μ	DS	μ	DS	
Giorni per recuperare il peso nascita	12,67	4,57	10,72	6,61	0,043	11,25	3,15	9,26	5,48	0,052
Giorni a 1800 g di peso	42,55	15,39	64,75	22,19	0,000	48,22	15,07	66,78	22,09	0,001
Minimo peso raggiunto (g)	951,0	243,9	743,7	201,0	0,000	813,2	212,1	722,3	206,7	0,101
Massima perdita di peso (%)	11,60	7,26	9,49	6,69	0,080	13,02	9,81	8,24	5,81	0,043
Peso a 7 giorni (g)	1028	266	792	206	0,000	890	233	772	208	0,046
Peso a 14 giorni (g)	1121	284	881	227	0,000	1006	283	857	230	0,034
Peso a 21 giorni (g)	1253	306	987	250	0,000	1111	302	963	255	0,054
Peso a 28 giorni (g)	1376	340	1088	272	0,000	1249	331	1061	277	0,028
Lunghezza a 21 giorni (cm)	37,57	2,57	35,80	3,42	0,004	36,97	2,61	35,43	3,49	0,079
Lunghezza a 36 SG (cm)	42,57	2,28	39,62	3,14	0,000	41,71	1,95	38,66	2,90	0,000
Circonferenza cranica a 21 giorni (cm)	27,24	1,75	26,61	2,45	0,339	27,17	1,35	26,50	2,48	0,383
Circonferenza cranica a 36 SG (cm)	31,18	2,60	30,22	2,10	0,058	30,88	1,89	30,02	2,16	0,209
Lunghezza tibia a 21 giorni (mm)	93,64	8,81	86,02	7,54	0,000	91,47	8,10	85,96	7,92	0,032
Lunghezza tibia a 36 SG (mm)	105,7	7,9	96,5	8,6	0,000	102,8	7,9	96,5	9,6	0,045
Velocità di crescita 1 [^] wk (g/Kg/die)	-7,53	13,69	1,73	19,38	0,002	-4,93	14,72	2,56	17,32	0,064
Velocità media con peso medio 1 [^] wk (g/Kg/die)	-9,35	11,50	-5,10	14,46	0,061	-10,13	12,94	-2,36	14,09	0,026
Velocità di crescita 2 [^] wk (g/Kg/die)	14,00	8,30	16,35	10,29	0,148	17,91	7,42	16,12	9,71	0,396
Velocità media con peso medio 2 [^] wk (g/Kg/die)	13,10	7,59	15,15	9,20	0,160	16,70	6,55	14,99	8,81	0,362
Velocità di crescita 3 [^] wk (g/Kg/die)	18,01	8,33	18,81	9,22	0,598	18,53	8,88	19,56	9,88	0,667
Velocità media con peso medio 3 [^] wk (g/Kg/die)	16,62	7,32	17,30	7,97	0,611	17,18	7,81	17,88	8,53	0,739
Velocità di crescita 4 [^] wk (g/Kg/die)	18,25	6,87	16,76	10,68	0,363	18,35	7,27	17,75	11,73	0,799
Velocità media con peso medio 4 [^] wk (g/Kg/die)	17,16	6,09	15,50	9,55	0,255	17,10	6,45	16,32	10,48	0,711
Media velocità di crescita 1° mese (g/Kg/die)	10,58	3,58	11,86	6,58	0,177	11,88	3,19	12,68	7,09	0,522

Gli EUGR_{1%} presentano livelli più bassi di urea allo stato basale e a 7 giorni di vita, e raggiungono ridotti livelli massimi di urea nella prima settimana e ad un mese di vita rispetto ai non EUGR_{1%} all'interno della popolazione generale. Sempre nella popolazione generale gli EUGR_{1%} presentano un pH basale superiore, livelli basali di calcio superiori e di fosfato e magnesio inferiori. L'andamento di calcio e magnesio riscontrato in questo gruppo è analogo a quello degli EUGR_{1%} nella popolazione di soli IUGR. Nella popolazione generale anche il fosfato sierico basale, a 7 e 21 giorni è inferiore negli EUGR_{1%}, mentre nella popolazione di soli IUGR si descrive un'associazione che tende alla significatività statistica (p=0,064) tra EUGR_{1%} e livelli basali di fosforo ridotti. In entrambi i gruppi ALP è inferiore negli EUGR_{1%} allo stato basale, ma aumentato a 21 giorni di vita, sebbene in maniera non statisticamente significativa (Tabella XXXIV).

Tabella XXXIV: Parametri biochimici nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (max: massimo; wk: settimana; SBE: eccesso di basi standard; ALP: fosfatasi alcalina)

LABORATORIO	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %		p	> 1 %		< 1 %		p
	μ	DS	μ	DS		μ	DS	μ	DS	
Urea basale (mmol/L)	7,30	2,98	5,29	2,44	0,000	6,06	3,06	4,73	1,74	0,108
Urea a 7 giorni (mmol/L)	8,10	3,69	6,72	3,28	0,037	6,74	2,71	6,32	2,89	0,600
Urea a 21-28 giorni (mmol/L)	3,68	2,16	3,89	2,09	0,638	3,75	1,95	3,72	1,85	0,966
Urea max 1 [^] wk (mmol/L)	9,12	3,64	7,20	3,44	0,003	7,28	2,87	6,66	3,01	0,434
Urea max 1 [^] mese (mmol/L)	9,47	4,41	7,85	3,50	0,023	7,73	3,04	7,38	3,27	0,679
pH basale	7,28	0,07	7,31	0,06	0,006	7,29	0,10	7,31	0,06	0,285
pH medio 1 [^] wk	7,30	0,05	7,31	0,04	0,181	7,30	0,03	7,31	0,04	0,300
pH medio 1 [^] mese	7,34	0,04	7,35	0,08	0,333	7,34	0,03	7,35	0,09	0,419
pH minimo 1 [^] wk	7,21	0,08	7,20	0,10	0,569	7,21	0,08	7,20	0,10	0,690
SBE basale	-5,01	3,23	-4,49	3,07	0,349	-4,21	4,20	-4,57	3,17	0,735
SBE a 7 giorni	-6,40	3,62	-5,47	3,98	0,173	-5,88	3,13	-5,23	3,93	0,472
SBE medio 1 [^] wk	-5,97	2,13	-5,38	2,25	0,128	-5,47	2,24	-5,34	2,35	0,833
SBE più negativo 1 [^] wk	-9,66	2,87	-9,67	3,23	0,984	-9,24	3,23	-9,62	3,32	0,662
Creatinina max 1 [^] wk (mmol/L)	74,04	19,20	77,93	19,69	0,257	66,95	21,14	76,21	18,64	0,099
Protidemia a 21-28 giorni (g/L)	47,68	4,92	47,94	6,32	0,823	46,50	4,18	47,36	6,60	0,576
Calcio basale (mmol/L)	2,05	0,28	2,23	0,23	0,000	2,11	0,25	2,28	0,21	0,013
Fosforo basale (mmol/L)	1,79	0,39	1,42	0,43	0,000	1,60	0,42	1,38	0,42	0,064
Magnesio basale (mmol/L)	1,00	0,32	0,86	0,13	0,001	1,07	0,40	0,86	0,13	0,035
Calcio a 7 giorni (mmol/L)	2,40	0,18	2,47	0,18	0,139	2,36	0,22	2,49	0,18	0,287
Fosforo a 7 giorni (mmol/L)	1,49	0,37	1,26	0,33	0,018	1,23	0,51	1,25	0,35	0,933

Continuazione **Tabella XXXIV**: Parametri biochimici nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (max: massimo; wk: settimana; SBE: eccesso di basi standard; ALP: fosfatasi alcalina)

LABORATORIO	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %			> 1 %		< 1 %		
	μ	DS	μ	DS	p	μ	DS	μ	DS	p
Magnesio a 7 giorni (mmoL/L)	0,96	0,18	0,89	0,13	0,093	0,92	0,14	0,90	0,15	0,730
Calcio a 21 giorni (mmoL/L)	2,45	0,21	2,46	0,14	0,900	2,48	0,07	2,45	0,15	0,256
Fosforo a 21 giorni (mmoL/L)	1,91	0,26	1,76	0,36	0,017	1,83	0,28	1,72	0,37	0,223
Magnesio a 21 giorni (mmoL/L)	0,87	0,10	0,87	0,11	0,941	0,86	0,07	0,85	0,12	0,753
ALP basale (U/L)	222,9	70,4	160,0	53,3	0,000	201,9	51,1	156,8	50,2	0,003
ALP a 21 giorni (U/L)	387,9	121,8	408,5	163,3	0,471	387,4	108,8	428,4	171,5	0,298

Il BTT basale, a 21 giorni e a 36 SG è inferiore negli EUGR_{1%} nella popolazione generale. Nella popolazione di IUGR solo la differenza in BTT a 36 SG è statisticamente significativa (Tabella XXXV).

Tabella XXXV: Parametri ultrasonografici (BTT) nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (wk: settimana; SG: settimane gestazionali)

STATO OSSEO	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %			> 1 %		< 1 %		
	μ	DS	μ	DS	p	μ	DS	μ	DS	p
mc-BTT basale (μ s)	0,51	0,09	0,44	0,11	0,002	0,48	0,08	0,43	0,10	0,073
mc-BTT 3 [^] wk (μ s)	0,47	0,08	0,42	0,09	0,009	0,45	0,08	0,42	0,09	0,338
mc-BTT 36 SG (μ s)	0,52	0,08	0,46	0,07	0,000	0,54	0,10	0,45	0,06	0,011

In entrambe le popolazioni una durata maggiore del ricovero, di ventilazione meccanica invasiva e di somministrazione di Fentanest si riscontra negli EUGR_{1%} rispetto ai non EUGR_{1%} (Tabella XXXVI).

Tabella XXXVI: Durata di ventilazione, ricovero e Fentanest nei due gruppi con peso superiore e inferiore al 1° percentile a 36 SG o alla dimissione (VMI: ventilazione meccanica invasiva)

RICOVERO	IUGR + non IUGR					IUGR				
	> 1 %		< 1 %			> 1 %		< 1 %		
	μ	DS	μ	DS	p	μ	DS	μ	DS	p
VMI (giorni)	5,60	13,05	13,75	25,21	0,018	4,68	7,50	14,56	25,81	0,016
VMI + c-PAP (giorni)	18,77	21,59	34,66	36,30	0,003	23,48	21,17	35,98	37,59	0,082
Giorni di ricovero	55,23	27,60	76,89	35,52	0,000	58,63	29,71	79,20	37,85	0,015
Fentanest durata (giorni)	2,38	7,39	6,18	8,23	0,037	1,50	3,06	6,48	8,58	0,008

4.4 Differenze nel profilo metabolomico di IUGR e non IUGR

Un campione di 34 bambini è stato selezionato per effettuare l'indagine metabolomica su urine. Tra questi soggetti 15 presentavano ritardo di crescita intrauterino, mentre 19 erano bambini AGA con normale crescita in utero. I due gruppi selezionati si sono dimostrati paragonabili in termini di anamnesi ostetrica della madre (rottura pretermine delle membrane, gravidanza singola o gemellare, tipo di parto, somministrazione di steroidi prenatali), di caratteristiche e parametri generali alla nascita (età gestazionale, sesso, peso, IA a 5 minuti) e di somministrazione di surfactante e complicanze post-natali (PDA, EOS, IVH, NEC).

L'indagine metabolomica "untargeted" su campioni di urine ha generato tramite ionizzazione negativa due dataset di 599 e 844 variabili tempo-massa chiamati rispettivamente T3 NEG e HILIC NEG, e tramite ionizzazione positiva altri due dataset di 1080 e 957 variabili tempo-massa chiamati rispettivamente T3 POS e HILIC POS. Ciascun dataset per ogni tipo di ionizzazione è stato ottenuto utilizzando una diversa colonna per la cromatografia liquida; quando si parla di variabile tempo-massa si fa riferimento ad un composto identificato tramite spettrometria di massa grazie al rapporto m/z e al tempo di ritenzione, che indica il tempo impiegato per la separazione del composto dopo che questo è stato iniettato nella colonna per la UPLC e strettamente associato alle sue proprietà chimiche. Sono state condotte sia analisi univariate che multivariate delle variabili identificate. L'analisi univariata ha identificato un totale di 30 variabili utili a discernere tra IUGR e non IUGR. La PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis), tecnica di analisi multivariata che seleziona le variabili utili a separare efficacemente i due gruppi, è stata costruita utilizzando due variabili latenti per ciascun dataset; lo score scatter plot in Figura 5 mostra la distribuzione dei campioni di IUGR e non IUGR del modello PLS-DA applicato su T3 NEG: la buona separazione dei punti grigi e neri nel grafico indicano una buona distinzione dei metaboliti identificati nei bambini con e senza ritardo di crescita intrauterino.

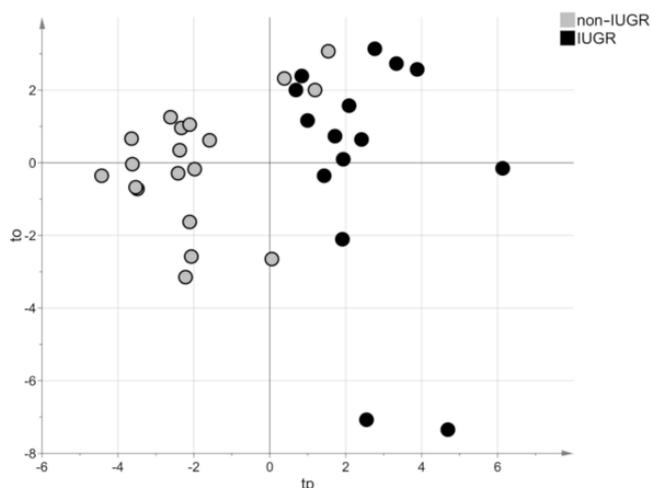


Figura 5: Score scatter plot del modello ottenuto per il dataset T3 NEG; i campioni dei bambini IUGR sono rappresentati da cerchi neri mentre i campioni dei non IUGR da cerchi grigi.

Le 271 variabili totali ottenute dall'analisi multivariata sono state unite alle 30 ottenute dall'analisi univariata, per un numero complessivo di 286 variabili. Di queste 57 sono state annotate con un livello di confidenza compreso tra 1 e 3, come riportato in Tabella XXXVII.

Tabella XXXVII: Variabili annotate (m/z: rapporto massa/carica; FC: fold change; lv: livello di annotazione; HMDB ID: codice identificativo in Human Metabolome Database)

	m/z	IUGR vs AGA	FC	lv.	HMDB ID	Annotazione
1	145.053	>IUGR	2.34	1	HMDB02302	3-Indolepropionic acid
2	203.083	>IUGR	2.10	1	HMDB0000929	L-Tryptophan
3	154.051	>Non-IUGR	0.28	1	HMDB0001476	3-Hydroxyanthranilic acid
4	110.072	>IUGR	1.24	1	HMDB00177	L-Histidine
5	122.028	>IUGR	1.75	1	HMDB00574	L-Cysteine
6	316.115	>Non-IUGR	0.58	1	HMDB00489	Aspartylglycosamine
7	227.115	>Non-IUGR	0.25	1	HMDB00033	Carnosine
8	267.075	>Non-IUGR	0.39	1	HMDB00195	Inosine
9	407.208	>Non-IUGR	0.50	1	HMDB0006758	Dihydrocortisone
10	148.045	>Non-IUGR	0.88	1	HMDB00696	L-Methionine
11	347.222	>Non-IUGR	0.54	1	HMDB0003259	5Beta-dihydrocortisol
12	371.259	>Non-IUGR	0.13	1	HMDB00391	7-ketodeoxycholic acid
13	287.201	>IUGR	2.75	1	HMDB0000053	Androstenedione
14	305.211	>IUGR	5.66	1	HMDB0004611	7 α -hydroxydehydroepiandrosterone (7 α -OH-DHEA)
15	168.063	>IUGR	1.43	2	HMDB00808	N-Butyrylglycine
16	192.048	>Non-IUGR	0.57	2	HMDB00763	5-Hydroxyindoleacetic acid
17	279.134	>Non-IUGR	0.80	2	HMDB03426	Pantetheine
18	174.124	>Non-IUGR	0.53	2	HMDB00856	N-a-Acetylcitrulline
19	274.092	>Non-IUGR	0.76	2	HMDB00671	Indolelactic acid
20	227.103	>Non-IUGR	0.66	2	HMDB04076	5-Hydroxykynurenamine
21	102.057	>IUGR	1.73	3	HMDB0000452	L-2-aminobutyric acid
22	231.088	>IUGR	1.27	3	HMDB02091	Isovalerylglucuronide
23	246.045	>IUGR	1.52	3	HMDB02381	N-Acetylcystathionine
24	137.026	>IUGR	1.75	3	HMDB03503	3-(3,4-Dihydroxyphenyl)lactic acid
25	195.065	>IUGR	1.43	3	HMDB02237	3,4-Dimethylbenzoic acid
26	615.223	>IUGR	36.93	3	HMDB06581	3-Sialyl-N-acetylactosamine

Continuazione **Tabella XXXVII**: Variabili annotate (m/z: rapporto massa/carica; FC: fold change; lv: livello di annotazione; HMDB ID: codice identificativo in Human Metabolome Database)

	m/z	IUGR vs AGA	FC	lv.	HMDB ID	Annotazione
27	284.08	>IUGR	1.51	3	HMDB04985 HMDB02248	Aspartylsine Gamma glutamyl ornithine
28	111.044	>IUGR	1.59	3	HMDB02074	2,2-Dimethylsuccinic acid
29	271.167	>IUGR	1.75	3	HMDB00145	Estrone
30	306.063	>IUGR	1.62	3	HMDB00229	Nicotinamide ribotide
31	201.113	>IUGR	1.57	3	HMDB00350	3-Hydroxysebacic acid
32	127.039	>IUGR	1.24	3	HMDB00393 HMDB00522	3-Hexenedioic acid 3-Methylglutaconic acid
33	328.045	>IUGR	1.82	3	HMDB01314 HMDB01397	Cyclic GMP GMP
34	103.05	>IUGR	1.49	3	HMDB01366	Purine
35	115.004	>Non-IUGR	0.68	3	HMDB00044 HMDB00134	Ascorbic acid Fumaric acid
36	130.051	>Non-IUGR	0.78	3	HMDB06272	5-Amino-2-oxopentanoate
37	77.0399	>Non-IUGR	0.64	3	HMDB00873 HMDB04284	4-Methylcatechol Tyrosol
38	277.12	>Non-IUGR	0.80	3	HMDB03426	Pantetheine
39	257.094	>Non-IUGR	0.24	3	HMDB00594	Glutamylphenylalanine
40	174.124	>Non-IUGR	0.53	3	HMDB00856	N-a-Acetylcitrulline
41	247.13	>Non-IUGR	0.59	3	HMDB00819 HMDB02832	Normetanephrine Methylnoradrenaline
42	116.107	>Non-IUGR	0.54	3	HMDB00339	2-Methylbutyrylglycine
43	250.094	>Non-IUGR	0.56	3	HMDB00230	N-Acetylneuraminic acid
44	257.079	>Non-IUGR	0.81	3	HMDB04629	O-Desmethylangolensin
45	296.101	>Non-IUGR	0.91	3	HMDB00859	1-Methylguanosine
46	149.048	>Non-IUGR	0.91	3	HMDB00127 HMDB00859 HMDB04308	D-Glucuronic acid Methylhippuric acid 7,9-Dimethyluric acid
47	142.052	>Non-IUGR	0.38	3	HMDB01138	N-Acetylglutamic acid
48	259.131	>Non-IUGR	0.54	3	HMDB03581	Dethiobiotin
49	305.096	>Non-IUGR	0.63	3	HMDB01067	N-Acetylaspartylglutamic acid
50	119.05	>Non-IUGR	0.53	3	HMDB02340	2-Methylbenzoic acid
51	331.227	>Non-IUGR	0.53	3	HMDB00016	Deoxycorticosterone
52	463.199	>Non-IUGR	0.47	3	HMDB00313	16b-Hydroxyestrone
53	225.087	>Non-IUGR	0.61	3	HMDB00732 HMDB00830 HMDB00877	Hydroxykynurenine Neuraminic acid Umanopterin
54	248.114	>Non-IUGR	0.66	3	HMDB03333	8-Hydroxy-deoxyguanosine
55	809.701	>Non-IUGR	0.59	3	HMDB04976 HMDB05435	Glucosylceramide (d18:1/26:1(17Z) TG(16:1(9Z)/16:1(9Z)/18:2(9Z,12Z))[iso3]
56	231.098	>Non-IUGR	0.71	3	HMDB00497 HMDB02335	5,6-Dihydrouridine Aspartyl-L-proline
57	169.134	>Non-IUGR	0.54	3	HMDB03581	Dethiobiotin

I 20 metaboliti annotati con un livello 1 o 2 sono stati sottoposti a “pathway over-representation analysis”, un’indagine statistica volta a identificare le vie metaboliche sovra-rappresentate o significativamente coinvolte nelle alterazioni degli analiti nei due gruppi. In Figura 6 sono rappresentate le quattro vie metaboliche significativamente alterate negli IUGR rispetto ai controlli ($p < 0,02$). La significatività è indicata come logaritmo negativo del valore p ($-\log(p)$),

rappresentato in ordinata nel grafico; ad un valore $p < 0,02$ corrispondono valori di $-\log(p) > 1,7$.

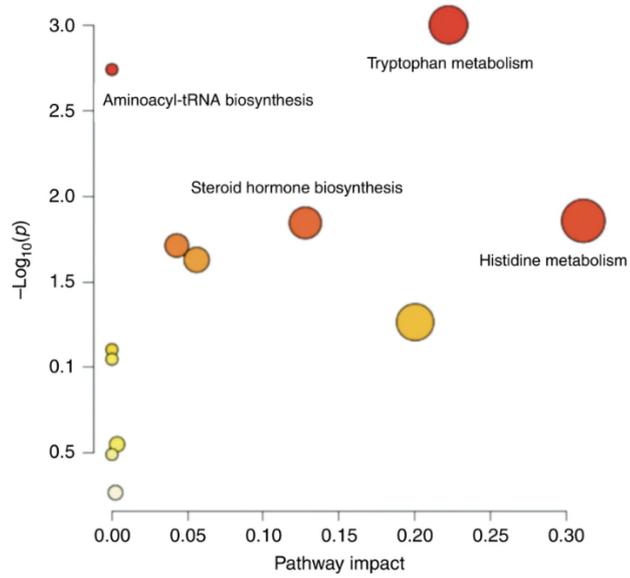


Figura 6: Vie metaboliche alterate nei bambini IUGR; in ascissa l'impatto della via metabolica perturbata, in ordinata il logaritmo negativo del valore p.

5. DISCUSSIONE

I primi 1000 giorni di vita sono un periodo cruciale per la crescita e la salute del neonato; pertanto, un'adeguata cura e nutrizione del bambino in questa fase hanno l'obiettivo di favorirne un buono sviluppo e prevenire eventuali esiti patologici sia durante l'infanzia sia più tardivamente nel corso della vita (219). Questo è particolarmente vero in riferimento a neonati più fragili come i bambini nati prematuramente, più frequentemente sottoposti a complicanze perinatali e post-natali per la mancanza di una completa maturazione di sistemi e apparati (8), o i neonati con ritardo di crescita intrauterino, bambini spesso anche prematuri la cui crescita è stata rallentata o si è arrestata durante la vita fetale per complicazioni insorte in corso di gravidanza (11). Lo studio si pone come obiettivo la descrizione di una popolazione di bambini nati prima delle 32 settimane gestazionali, tramite analisi delle differenze tra bambini con e senza IUGR e dei fattori clinici e nutrizionali associati a migliore crescita e stato osseo nei due gruppi. L'indagine metabolomica effettuata su campioni di urine alla nascita in un sottogruppo della popolazione ha inoltre reso possibile il confronto del profilo metabolomico di IUGR e non IUGR.

A parità di età gestazionale, i bambini IUGR presentano parametri antropometrici inferiori alla nascita rispetto ai bambini non IUGR. Questi risultati sono in accordo con la definizione stessa di IUGR: poiché durante la vita intrauterina sperimentano condizioni avverse che alterano la crescita fetale, nella maggior parte dei casi questi neonati avranno peso, lunghezza e circonferenza cranica inferiori rispetto alla popolazione generale (220). Tuttavia, il 29% dei bambini IUGR alla nascita presentava peso superiore al decimo percentile per età gestazionale. I termini IUGR e SGA infatti non sempre coincidono; un bambino può nascere con un peso adeguato all'età gestazionale pur non avendo raggiunto il proprio potenziale di crescita in utero (14), così come un neonato SGA può essere costituzionalmente piccolo e non aver presentato una decelerazione della crescita durante la gravidanza (13). Anche la misura della tibia nel gruppo di bambini IUGR è risultata inferiore alla nascita rispetto ai bambini non IUGR.

Gli esami ematochimici alla nascita hanno rilevato differenze nei valori di urea e di minerali nei due gruppi. L'urea è un prodotto del metabolismo dell'ammonio, a sua volta originato dalla degradazione degli amminoacidi. Nei bambini di basso

peso alla nascita la sintesi di urea è transitoriamente ridotta, per poi aumentare nel corso delle prime settimane di vita (221). Tale recupero non avviene efficacemente nei bambini SGA (222) e studi su modelli animali con IUGR indotta hanno dimostrato una ridotta attività degli enzimi coinvolti nel ciclo dell'urea ed una minore produzione fetale di urea, dimostrando che queste alterazioni originano già in utero materno nel corso della gestazione (223). Tali osservazioni sono in linea con i ridotti livelli ematici di urea basale e a sette giorni di vita riscontrati negli IUGR in studio.

Nella popolazione studiata gli IUGR hanno presentato concentrazioni sieriche più elevate di calcio alla nascita e ridotte di fosforo alla nascita, a 7 e a 21 giorni di vita. Ridotti livelli ematici di fosforo al momento della nascita potrebbero riflettere un'insufficiente apporto del minerale al feto in epoca prenatale (224). Diversi studi in letteratura hanno associato la condizione di IUGR e di peso alla nascita molto basso a ipofosfatemia e ipercalcemia nei primi giorni di vita, soprattutto se in associazione ad un precoce ed aggressivo avvio della nutrizione parenterale (225–228). Alla base di tali alterazioni è stato proposto un meccanismo simile alla sindrome da rialimentazione osservabile nell'adulto malnutrito a seguito di un'importante e rapida reintroduzione di cibo nella dieta (225). Il feto con ritardo di crescita intrauterino è spesso sottoposto a malperfusioni placentare, e quindi iponutrito; al momento della nascita la somministrazione endovenosa di nutrienti, e in particolare di elevati intake aminoacidici (226), si associa ad un aumento dei livelli ematici di insulina che favorisce il passaggio di fosfato e potassio dallo spazio extracellulare allo spazio intracellulare, inducendo ipokaliemia e ipofosfatemia in una fase dello sviluppo in cui le richieste di questi ioni sono aumentate per garantire l'anabolismo tissutale (229). Il fosforo è ubiquitario e ricopre un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi cellulare e nella composizione di fosfolipidi, nucleotidi ed acidi nucleici (230), pertanto una sua riduzione in circolo si può associare a complicanze severe come disfunzione miocardica, insufficienza respiratoria e rhabdmiolisi (229). Inoltre, se l'ipofosfatemia non viene corretta il fosforo viene riassorbito a livello osseo con predisposizione allo sviluppo di metabolic bone disease e mobilitazione di calcio che può condurre ad uno stato ipercalcemico (225). Generalmente l'ipofosfatemia si osserva dopo 3-4 giorni dall'inizio della

nutrizione parenterale, ma in caso di severa malnutrizione intrauterina si può manifestare già a partire dal primo giorno di vita (231).

I risultati dello studio hanno indicato una correlazione positiva statisticamente significativa tra i livelli sierici di fosfato basali ed il BTT basale e a 36 SG nel gruppo dei bambini IUGR. Il rilevamento di concentrazioni sieriche di fosforo ridotte nel gruppo IUGR potrebbe essere indicativo di alterato stato osseo nel neonato già a partire dai primi giorni di vita. Inoltre, la fosforemia a 21 giorni è positivamente associata a BTT sia nei bambini IUGR sia nei non IUGR a tre settimane di vita e a 36 SG. In accordo con quanto descritto in letteratura (142,143), questi dati suggeriscono un ruolo della fosfatemia delle prime settimane di vita nel predire lo stato osseo in corso di ricovero, con livelli più elevati di fosforo ematico associati a maggior benessere osseo. Lee et al. (142) hanno dimostrato che ad una prolungata riduzione della fosfatemia oltre le due settimane post-natali si associano ridotti valori di densità minerale ossea alla dimissione nei bambini di peso molto basso alla nascita, e Moreira et al. (143), hanno identificato un cut-off per la fosfatemia di 4,6 mg/dL (1,5 mmol/L) a tre settimane per predire l'insorgenza di metabolic bone disease. Concentrazioni sieriche basali di ALP sono risultate inferiori nel gruppo non IUGR, ma questa relazione è poco significativa dal punto di vista clinico essendo i valori in entrambi i gruppi entro i normali range fisiologici. Si è invece osservato un incremento non statisticamente significativo ($p=0,0722$) di ALP nel gruppo IUGR a 21 giorni, che, soprattutto se relazionato alla ridotta fosforemia nello stesso periodo, potrebbe essere indicativo di un peggiore stato osseo del bambino (142). Inoltre nello studio è stata descritta una correlazione negativa tra ALP a 21 giorni e BTT a 21 giorni sia negli IUGR, sia nei non IUGR, ma la ricerca di un cut-off per ALP che potesse descrivere l'andamento dello stato osseo a 36 SG non ha prodotto risultati significativi.

Coerentemente con quanto descritto sopra, i valori di mc-BTT allo stato basale e a 3 settimane di vita sono inferiori negli IUGR rispetto ai non IUGR; poiché BTT è strettamente associato alla salute dell'osso, si può desumere dai nostri risultati che nascere IUGR è un fattore di rischio per peggiore stato osseo alla nascita e nelle prime settimane di vita. Tale ipotesi trova conferma in uno studio del 2008 (232), che ha dimostrato come il ridotto peso per età gestazionale ed il ritardo di crescita intrauterino sono fattori di rischio indipendenti e significativi per ridotto

contenuto minerale osseo alla nascita. Una più recente metanalisi (122) ha definito il ritardo di crescita intrauterino come fattore di rischio indipendente per metabolic bone disease della prematurità, con un OR di 6,89. La ridotta mineralizzazione ossea dei bambini IUGR è probabilmente legata ad una condizione di alterato trasporto placentare di minerali al feto a causa della patologia ostetrica alla base della condizione (232).

I bambini IUGR, oltre ad essere rimasti a digiuno per più giorni durante il ricovero, hanno ricevuto apporti energetici mediamente inferiori nella prima settimana e nel primo mese di vita. Ipotizziamo che la causa sia stata il timore di un aumentato rischio di sviluppare NEC in questi bambini durante il ricovero, sebbene non dimostrato dal nostro studio. Inoltre, gli IUGR sono stati alimentati più a lungo con nutrizione parenterale ed hanno raggiunto più tardivamente la nutrizione enterale esclusiva. Questi dati potrebbero riflettere la cautela dei neonatologi in reparto nell'introdurre la nutrizione enterale in bambini fragili come gli IUGR, soggetti a maggiore rischio di NEC o intolleranza intestinale. È da considerare infatti che il bambino con ritardo di crescita intrauterino presenta immaturità intestinale nel primo periodo post-natale, legata alle alterazioni flussimetriche che, in una condizione di danno placentare, prediligono la perfusione di organi nobili come il sistema nervoso centrale (*brain sparing*) a scapito di altri apparati, come il digerente, che vanno incontro ad ipossi-ischemia (57). È descritta in letteratura, ma non nel nostro studio, un'associazione statisticamente significativa tra ritardo di crescita intrauterino e sviluppo di NEC (52). Un trial randomizzato (233) condotto su una popolazione di 404 neonati IUGR, tuttavia, ha dimostrato che un precoce avvio di nutrizione enterale in questi bambini non si associa ad un aumentato rischio di NEC, mentre si associa ad una inferiore durata di nutrizione parenterale e ad una maggiore crescita in peso durante il ricovero. Il *minimal enteral feeding*, che consiste nell'introduzione precoce di piccoli volumi di nutrizione enterale tipicamente compresi tra 12-24 ml/Kg/die, stimola il trofismo e la motilità intestinale, ma anche la maturità endocrina e metabolica del neonato (234). Pertanto, le ultime linee guida europee raccomandano per il prematuro di iniziare quanto più precocemente possibile la nutrizione enterale, con lo scopo di ridurre la durata di nutrizione parenterale e di limitare il tempo necessario al raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva (171). La riduzione del tempo trascorso dal bambino in nutrizione parenterale è un

obiettivo importante, perché si associa ad un ridotto rischio di complicanze come sepsi, osteopenia della prematurità, patologie epatiche e ritardo di crescita post-natale (175). È interessante osservare come la somministrazione endovenosa di fosforo a due settimane e a un mese di vita sia risultata superiore nel gruppo degli IUGR rispetto ai non IUGR, nonostante i livelli ematici di fosforo in questi bambini risultino inferiori secondo quanto riportato sopra.

I bambini IUGR hanno presentato con maggiore frequenza episodi di ipertrigliceridemia durante il ricovero, coerentemente con quanto già descritto in letteratura per bambini SGA e IUGR (76,235,236). In questi pazienti si verifica probabilmente una ridotta lipolisi o una diminuita ricaptazione, e dunque una ridotta clearance, di lipoproteine ricche in trigliceridi a livello plasmatico (236). Inoltre, nei bambini SGA si può riscontrare una condizione di iperinsulinemia che induce una maggiore sintesi di VLDL (*very-low-density lipoproteins*), ed una resistenza periferica dell'insulina sull'azione della lipoproteina lipasi che può favorire un ulteriore incremento dei livelli sierici di trigliceridi (76).

Nei bambini IUGR si è riscontrata una maggiore prevalenza di BPD ed un utilizzo più prolungato di ventilazione meccanica invasiva e c-PAP nel corso del ricovero. Lo studio di Bose et al. (237), in linea con i nostri risultati, ha indicato il ritardo di crescita fetale come fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di BPD, ipotizzando che alla base dell'associazione ci fosse un'anomala angiogenesi polmonare, un'ipossia fetale in grado di compromettere lo sviluppo del polmone e un'alterata programmazione della crescita fetale che si traduceva in una ridotta crescita delle basse vie respiratorie nel neonato IUGR. La maggiore insorgenza di complicanze polmonari nei bambini IUGR potrebbe rendere conto dei minori apporti energetici somministrati in questi bambini nella prima settimana di vita (238). Inoltre, il maggiore utilizzo di diuretici nella popolazione IUGR emerso dal nostro studio rispecchia probabilmente la maggiore prevalenza di patologie polmonari e renali in questi bambini.

Lo studio della crescita nelle due popolazioni ha dimostrato che i neonati IUGR recuperano più rapidamente il peso alla nascita rispetto ai non IUGR, ma durante il ricovero raggiungono un peso minimo inferiore e impiegano più tempo a raggiungere i 1800 g di peso. Il peso dei bambini IUGR è risultato inferiore in tutti gli intervalli di misurazione, anche al raggiungimento delle 36 SG e ad un

anno di età. Un simile andamento è stato descritto per la lunghezza totale del neonato, mentre differenze statisticamente significative nella lunghezza della tibia si sono rilevate fino al raggiungimento delle 36 SG. Ridotti peso e lunghezza del bambino SGA o IUGR nel primo anno di vita sono dati già noti in letteratura (239,240). La circonferenza cranica del bambino a 36 SG e ad un anno di età è invece paragonabile nei due gruppi; tale differenza rispetto agli altri parametri antropometrici potrebbe essere legata al fenomeno di *brain sparing* già descritto sopra (220). Nonostante i minori apporti energetici somministrati, gli IUGR in studio sembrano aver guadagnato peso più rapidamente rispetto ai non IUGR nelle prime due settimane e ad un mese di vita. Un rapido recupero ponderale nei bambini SGA, che costituiscono la maggior parte del nostro campione di IUGR, si associa a migliori outcomes in termini di crescita e sviluppo neurocognitivo in età evolutiva e adulta, ma anche ad un maggior rischio in età tardiva di sviluppare sindrome metabolica con aumentata adiposità, resistenza insulinica e incremento della pressione arteriosa (89). Lo studio di Embleton et al. (91) ha tuttavia dimostrato come i disturbi metabolici si verificano soprattutto quando il recupero di crescita avviene dopo l'anno di età, motivo per cui la nutrizione aggressiva in vista di un rapido accrescimento postnatale del prematuro viene promossa dalle attuali linee guida (171).

Si è osservata una maggiore prevalenza di ritardo di crescita in peso e lunghezza a 36 SG nella popolazione IUGR; in particolare, la quasi totalità dei bambini in questo gruppo non raggiungeva il decimo percentile a 36 SG per tali parametri. Anche la maggior parte dei non IUGR, rispettivamente il 69% e l'89%, ha dimostrato ritardo di crescita in peso e lunghezza a 36 SG. Izquierdo Renau et al. (241), in una coorte di 197 bambini prematuri nati prima delle 32 SG, hanno descritto un'incidenza del 66% di ritardo di crescita ponderale a 36 SG, simile a quella riscontrata nei non IUGR del nostro studio. Il ritardo di crescita, nello stesso studio, era inoltre presente in tutti i bambini IUGR arruolati ad eccezione di uno. Nonostante questi dati appaiano poco confortanti, Karlberg e Albertsson-Wikland hanno osservato che un'elevata percentuale di bambini nati SGA tende a recuperare in lunghezza entro i primi 6-12 mesi di vita (63). Solo un 10% circa di neonati SGA presenterà bassa statura in età adulta (64). Inoltre uno studio ha riscontrato altezze comparabili in un gruppo di bambini di 12 anni con diagnosi

prenatale di ritardo di crescita fetale rispetto a un gruppo di controlli di pari età (65).

Su tutti i pazienti appaiati si sono ricercati tra alcune variabili da noi selezionate i possibili fattori di rischio per ritardo di crescita extra-uterino (EUGR), definito come peso inferiore al decimo percentile a 36 SG o alla dimissione. I soggetti con peggiore crescita hanno ricevuto minori apporti calorici nella prima settimana e nel primo mese di vita, un minore apporto di proteine nella prima settimana e una minore idratazione durante tutto il ricovero; sono inoltre rimasti mediamente a digiuno più a lungo. Un inadeguato intake calorico, oltre ad associarsi a ridotta crescita del neonato, può favorire un deficit di massa magra e alterazioni cognitive, motorie e immunitarie (189). Analogamente, bassi apporti proteici post-natali si associano a minore crescita del bambino (242) e, probabilmente, a peggiori outcomes neurologici durante l'età evolutiva (243). In aggiunta, una restrizione di liquidi può interferire con la distribuzione dei nutrienti nell'organismo, alterandone l'assunzione e predisponendo ad insufficiente crescita del neonato (244). Ai bambini EUGR è stata somministrata nutrizione parenterale per più giorni e, sempre nei bambini EUGR, è stato impiegato più tempo per il raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva. Periodi prolungati di NPT, anche garantendo gli apporti energetici e nutrizionali raccomandati dalle linee guida, possono rivelarsi importanti fattori di rischio per EUGR come dimostrato dallo studio di Pichler et al. (245), forse per la severità della malattia stessa alla base dell'impiego di NPT. Allo stesso modo, una nutrizione enterale esclusiva ritardata può sottendere un grado severo di immaturità e malattia del bambino, che incide sulla sua crescita in peso e lunghezza (246). Inoltre, gli EUGR hanno presentato livelli ematici inferiori di fosforo basali e a 7 giorni di vita, riflettendo forse un peggiore stato osseo del neonato. Interventi nutrizionali precoci adeguati alle esigenze del neonato prematuro potrebbero ridurre l'incidenza sia di EUGR che di MBD (166).

Poiché la quasi totalità dei neonati IUGR ha presentato EUGR, all'interno di questo gruppo sono stati selezionati i bambini che non raggiungevano il primo percentile in peso a 36 SG o alla dimissione (EUGR_{1%}), e sono stati confrontati con gli altri neonati IUGR. Si sono esaminati i parametri associati allo sviluppo o meno di EUGR_{1%} anche nella popolazione generale. Nella popolazione generale, oltre ai fattori di rischio per EUGR già descritti, si è osservato che tutti i parametri

antropometrici allo stato basale e ai diversi intervalli di misurazione sono risultati significativamente inferiori nel gruppo EUGR_{1%} rispetto al gruppo non EUGR_{1%}, ad eccezione delle misure di circonferenza cranica a 21 giorni e a 36 SG. Intuitivamente, infatti, bambini più piccoli alla nascita e durante il ricovero presentano una probabilità superiore di rimanere piccoli anche a 36 SG e alla dimissione. Inoltre, sempre nella popolazione generale, si sono descritti tra gli EUGR_{1%} valori di BTT ridotti in tutti gli intervalli di misurazione, a conferma di quanto già discusso circa il peggiore stato osseo nei bambini con ridotta crescita post-natale. All'interno della popolazione IUGR le variabili identificate associate a peggiore crescita sono stati gli inferiori parametri antropometrici, una scarsa idratazione totale a 7 giorni, una prolungata NPT, un più lungo periodo prima del raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva, bassi valori di BTT a 36 SG e un prolungato utilizzo di Fentanest. Inoltre, nella popolazione IUGR gli EUGR_{1%} presentavano concentrazioni sieriche basali di fosforo inferiori con un valore p tendente alla significatività ($p=0,064$).

Si sono poi ricercate le variabili che hanno influenzato lo stato osseo basale, a 3 settimane e a 36 SG nei bambini con e senza IUGR. Lo stato osseo misurato attraverso il BTT è risultato positivamente correlato ai parametri antropometrici, in particolare abbiamo riscontrato una correlazione con la lunghezza della tibia in tutte le misurazioni. Uno studio in cui lo stato osseo di bambini di peso inferiore a 1250 g alla nascita è stato valutato tramite QUS del secondo osso metacarpale ha identificato nella lunghezza dell'arto inferiore il parametro antropometrico che meglio correla con mc-BTT, proponendolo come marker di stato osseo nel neonato (247). Periodi prolungati di NPT correlano negativamente con BTT a 3 settimane e a 36 SG nei due gruppi, ed in particolare nel gruppo di IUGR i giorni trascorsi prima del raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva correlano negativamente con gli stessi parametri ultrasonografici. Periodi prolungati di nutrizione parenterale si associano a minori intake proteici ed energetici che possono compromettere la sintesi di nuovo tessuto osseo (248), mentre la scarsa solubilità dei minerali nelle soluzioni parenterali comporta carichi somministrati di calcio e fosfato non adatti a sostenere i ritmi di accrescimento fetale dell'osso, con conseguente scarsa mineralizzazione nel prematuro (150).

L'intake di proteine per via parenterale nella seconda settimana e la media di proteine somministrate nel primo mese di vita correlano negativamente con BTT a

3 settimane e a 36 SG negli IUGR. Questi risultati sottolineano come elevati apporti amminoacidici dopo la nascita, se non accompagnati da adeguate concentrazioni di micronutrienti normalmente forniti al feto per via placentare durante la vita intrauterina, possono contribuire alla sindrome da rialimentazione del neonato, favorendo lo sviluppo di ipofosfatemia (225) e quindi, come già ampiamente descritto, a peggiore stato osseo nel neonato. Al contrario, la media di apporti calorici totali nella prima settimana e nel primo mese di vita migliorano lo stato osseo durante l'ospedalizzazione. Questi risultati sono concordi a quelli ottenuti in altri studi, che riportano un migliore stato osseo nei bambini alimentati con più elevati intake energetici sin dai primi giorni di vita (248). Intake maggiori di vitamina D nel corso del ricovero si sono associati a migliori parametri ultrasonografici a 3 settimane e 36 SG nei bambini di entrambi i gruppi in studio. La vitamina D è un importante regolatore del metabolismo fosfo-calcico e una sua carenza severa si può associare ad ipocalcemia per minore riassorbimento di calcio a livello intestinale e a conseguenti alterazioni nello sviluppo scheletrico (111). Tuttavia la letteratura non è univoca nel definire gli apporti di vitamina D necessari a garantire un buono stato osseo, con alcuni studi che dimostrano un'associazione significativa tra elevati intake vitaminici o elevati livelli sierici di 25-OH-vitamina D e maggiore mineralizzazione ossea (249), e altri studi che dimostrano che anche bassi intake di vitamina D sono efficaci nel prevenire l'osteopenia della prematurità (250,251). Le linee guida raccomandano una somministrazione di vitamina D di 80-400 UI/Kg/die per via parenterale, e tra 400-700 UI/Kg/die fino ad un massimo di 1000 UI/die per via enterale (171,195).

Studiando le correlazioni tra parametri laboratoristici e stato osseo dei nostri pazienti si è osservata una correlazione positiva tra eccesso di basi (SBE) alla nascita e BTT basale e a 3 settimane di vita nella popolazione IUGR. Una carenza di basi è infatti indice di una condizione di acidosi metabolica che potrebbe favorire il deterioramento dell'osso direttamente a causa dell'azione tamponante delle cariche positive presenti sulla sua superficie, o indirettamente tramite un'alterata funzionalità di osteoblasti, osteoclasti, PTH e vitamina D (252). Si è riscontrata inoltre un'associazione, già discussa, tra parametri ultrasonografici e concentrazioni ematiche di fosforo e ALP.

La durata di ventilazione meccanica invasiva e c-PAP è correlata negativamente ai parametri ultrasonografici a 3 settimane e a 36 SG nei due gruppi. La durata di

terapia con Fentanest, un sedativo oppioide, è risultata invece negativamente correlata a BTT a 3 settimane di vita solo nel gruppo non IUGR. L'uso di ventilazione e sedativi si può associare a prolungata immobilizzazione del neonato, con aumentati riassorbimento osseo e demineralizzazione che contribuiscono allo sviluppo di osteopenia della prematurità (253). Le sollecitazioni meccaniche applicate all'osso e favorite dal movimento del bambino contribuiscono infatti all'accrescimento scheletrico (119).

Sono stati identificati per alcune variabili dei cut-off che potessero essere predittivi di migliore o peggiore stato osseo. Ci sembra di interesse sottolineare che uno stato osseo migliore a 36 SG (mcBTT) è stato rilevato in pazienti che ricevevano apporti di energia totale somministrata nella prima settimana maggiori di 76,9 Kcal/Kg/die ed apporti di energia totale nel primo mese di vita maggiori di 105,6 Kcal/Kg/die. Inoltre, una durata di nutrizione parenterale inferiore a 16 giorni, apporti endovenosi medi di vitamina D superiori a 41,5 UI/Kg/die nel primo mese di vita, e misure di lunghezza della tibia a 21 giorni superiori a 91 mm erano presenti nei neonati con maggiori valori di mcBTT a 36 SG (v. Tabella XXVIII).

Tramite un'analisi statistica complessa denominata analisi multivariata della varianza (MANOVA) è emerso che bassi valori di vitamina D, lunghezza della tibia inferiore e una lunga durata di nutrizione parenterale sono predittivi per bassi valori di BTT a 36 SG.

In un sottogruppo di 34 bambini, di cui 15 IUGR e 19 non IUGR, sono state effettuate indagini metabolomiche su campioni di urina alla nascita. Sono state identificate quattro vie metaboliche alterate nei bambini IUGR rispetto ai controlli: il metabolismo di triptofano e istidina, e la sintesi di ormoni steroidei e amminoacil-tRNA.

Più elevati livelli di triptofano sono stati riscontrati nei campioni di bambini IUGR. Altri cinque metaboliti della via metabolica del triptofano presentavano differenze quantitative nei due gruppi in esame: l'acido 3-indolepropionico, l'acido 5-idrossiindolacetico, la 5-idrossichinurenamina, l'acido indolacetico e l'acido 3-idrossiantranilico. Il triptofano è un amminoacido essenziale e durante la vita intrauterina viene trasportato attivamente dalla placenta, partecipando alla sintesi proteica e favorendo l'accrescimento fetale (254,255). Sono due le

principali vie coinvolte nel metabolismo di questo amminoacido: il 90% del triptofano segue la via metabolica della chinurenina, il restante 10% viene trasformato in neurotrasmettitori ed ormoni come serotonina e melatonina (256). La via della chinurenina è risultata quella maggiormente compromessa negli IUGR; uno studio, a supporto di questi risultati, ha dimostrato che l'espressione di alcuni enzimi coinvolti nella via della chinurenina sono ridotti nella placenta di feti IUGR e che ambienti ipossici riducono l'espressione dei metaboliti originati da tale pathway (257). L'incremento urinario di triptofano potrebbe riflettere un incremento plasmatico legato ad una minore affinità tra l'amminoacido e l'albumina in circolo (258).

L'istidina, un altro amminoacido essenziale, è riscontrata in concentrazioni più elevate nelle urine dei bambini IUGR. La concentrazione ematica e urinaria di 3-metilistidina (3-MI), uno dei suoi principali metaboliti, è un marcatore sensibile di degradazione proteica nel muscolo (259). Nonostante i livelli urinari di 3-MI siano comparabili nei due gruppi in studio, si può ipotizzare che le maggiori concentrazioni urinarie di istidina evidenziate nei bambini IUGR siano indice di un aumentato catabolismo proteico. Inoltre la carnosina, un metabolita derivato dalla condensazione di alanina e istidina, è stata riscontrata a livelli urinari inferiori nella popolazione IUGR. Studi sulla carnosina hanno dimostrato una sua azione antiossidante, agendo questa come chelante di ioni metallici e come scavenger di specie reattive dell'ossigeno e perossi-radicali (260). È noto il ruolo dello stress ossidativo nella patogenesi del ritardo di crescita intrauterino, in particolare in condizioni di inadeguata perfusione e ipossia placentare (261). La ridotta concentrazione di carnosina nelle urine dei bambini IUGR potrebbe dunque indicare un suo aumentato consumo, legato alla neutralizzazione delle elevate quantità di sostanze ossidanti presenti in questi soggetti.

Sono state infine descritte alterazioni nella sintesi di ormoni steroidei nei bambini IUGR. In condizioni di ipossia e iponutrizione il feto IUGR attiva l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene alterando l'equilibrio degli ormoni steroidei in circolo (262). Nel nostro studio abbiamo riscontrato che diidro cortisolo e diidro cortisone, metaboliti derivati dalla riduzione di cortisolo e cortisone, erano inferiori nei campioni di urina degli IUGR; l'equilibrio di questi ormoni nel plasma sembra avere un ruolo nella modulazione dell'attività dei glucocorticoidi (263). Al contrario, il 7α -idrossi-diidroepiandrosterone è risultato significativamente

superiore nei bambini IUGR. È stato descritto un ruolo di tale ormone nella mancata attivazione del cortisone in cortisolo (264), quindi ipotizziamo che negli IUGR sia incrementato per contrastare l'aumentata espressione di cortisolo indotta dalla condizione di stress intrauterino. Infine, nelle urine degli IUGR, si sono osservate alterate concentrazioni di androstenedione, estrone e 16-idrossiestrone, coinvolti nelle vie metaboliche degli ormoni sessuali. Da alcune pubblicazioni emerge che il sesso potrebbe avere un ruolo nel determinare il profilo degli ormoni sessuali nei bambini SGA (265).

6. CONCLUSIONI

Dall'analisi dei parametri ultrasonografici è emerso che i neonati IUGR presentano un peggiore stato osseo già al momento della nascita, con la tendenza a non migliorare nelle prime settimane di vita. La fosforemia, ridotta nei bambini IUGR in tutti gli intervalli di misurazione durante il ricovero, correla positivamente con i valori di BTT ed è quindi un parametro da tenere in considerazione per la determinazione dello stato osseo nei neonati prematuri.

Gli IUGR proseguono la nutrizione parenterale più a lungo e raggiungono più tardivamente la nutrizione enterale esclusiva. Tra i parametri biochimici, oltre alla ridotta fosforemia nonostante gli adeguati apporti di fosfato, minori concentrazioni ematiche di urea e più frequenti episodi di ipertrigliceridemia nel primo periodo post-natale si associano alla condizione di IUGR.

I bambini IUGR presentano parametri antropometrici alla nascita e durante il ricovero mediamente inferiori rispetto agli altri neonati, con un peso inferiore al decimo percentile al raggiungimento di 36 SG e alla dimissione. Nel neonato prematuro tra i fattori nutrizionali che si associano a ritardo di crescita extrauterino (EUGR) si descrivono livelli di fosforemia inferiori e scarsi apporti energetici e proteici, una prolungata nutrizione parenterale e un ritardo nel raggiungimento della nutrizione enterale esclusiva, fattori similmente influenzanti la crescita del neonato IUGR. Abbiamo inoltre descritto un'associazione significativa tra minimo peso raggiunto, peggiore crescita ponderale e peggiore stato osseo che si evidenzia in particolare nel neonato IUGR.

Un'aumentata lunghezza della tibia potrebbe essere un marcatore di buona crescita ossea nel neonato IUGR. Al contrario, la NPT, quando possibile, andrebbe limitata ad un breve intervallo temporale perché utilizzata per periodi significativamente superiori nei pazienti con peggiore stato osseo. Per un adeguato sviluppo osseo, gli apporti proteici somministrati al neonato nei primi giorni di vita devono essere accompagnati da un'adeguata somministrazione di micronutrienti, mentre elevati apporti energetici e di vitamina D nel corso del ricovero si associano a migliori parametri ultrasonografici. In particolare, un migliore stato osseo a 36 SG è stato descritto nei pazienti con apporti calorici maggiori di 76,9 Kcal/Kg/die nella prima settimana e nei pazienti con apporti calorici maggiori di 105,6 Kcal/Kg/die nel primo mese di vita.

L'analisi metabolomica effettuata sulle urine dei pazienti permette di osservare alcune differenze in specifiche vie metaboliche nei bambini IUGR, in particolare nella sintesi di ormoni steroidei e nel metabolismo di triptofano e istidina. Questi dati dimostrano che la metabolomica, oltre ad un importante ruolo nell'indagine del metabolismo del neonato IUGR, potrebbe in futuro indirizzare le scelte del clinico nella gestione del paziente, in particolare nella somministrazione di nutrizione o terapie personalizzate.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO. Preterm birth [Internet]. Disponibile su: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
2. World Health Organization, curatore. International statistical classification of diseases and related health problems. 10th revision, 2nd edition. Geneva: World Health Organization; 2004. 3 p.
3. Rosaria Boldrini, Miriam Di Cesare, Fulvio Basili, Campo Gaia, Moroni Rossana, Morgan Romanelli, Elvira Rizzuto, Vito Trevisani. Certificato di assistenza al parto (CeDAP). Analisi dell'evento nascita - Anno 2021. 2022.
4. Cao G, Liu J, Liu M. Global, Regional, and National Incidence and Mortality of Neonatal Preterm Birth, 1990-2019. *JAMA Pediatr.* 1 agosto 2022;176(8):787.
5. Perin J, Mulick A, Yeung D, Villavicencio F, Lopez G, Strong KL, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet Child Adolesc Health.* febbraio 2022;6(2):106–15.
6. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *The Lancet.* gennaio 2008;371(9606):75–84.
7. Platt MJ. Outcomes in preterm infants. *Public Health.* maggio 2014;128(5):399–403.
8. Behrman RE, Butler AS, Institute of Medicine (U.S.), curatori. Preterm birth: causes, consequences, and prevention. Washington, D.C: National Academies Press; 2007. 772 p.
9. Koullali B, Oudijk MA, Nijman TAJ, Mol BWJ, Pajkrt E. Risk assessment and management to prevent preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* aprile 2016;21(2):80–8.
10. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* ottobre 2018;52:3–12.
11. Sharma D, Shastri S, Farahbakhsh N, Sharma P. Intrauterine growth restriction – part 1. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 16 dicembre 2016;29(24):3977–87.
12. Melamed N, Baschat A, Yinon Y, Athanasiadis A, Mecacci F, Figueras F, et al. FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) initiative on fetal growth: Best practice advice for screening, diagnosis, and management of fetal growth restriction. *Int J Gynecol Obstet.* marzo 2021;152(S1):3–57.
13. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, et al. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol.* aprile 2013;208(4):290.e1-290.e6.

14. Vasak B, Koenen SV, Koster MPH, Hukkelhoven CWPM, Franx A, Hanson MA, et al. Human fetal growth is constrained below optimal for perinatal survival: Optimal fetal growth for perinatal survival. *Ultrasound Obstet Gynecol.* febbraio 2015;45(2):162–7.
15. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, Papageorgiou A, Baschat AA, Baker PN, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure: Consensus definition of FGR. *Ultrasound Obstet Gynecol.* settembre 2016;48(3):333–9.
16. Savchev S, Figueras F, Sanz-Cortes M, Cruz-Lemini M, Triunfo S, Botet F, et al. Evaluation of an Optimal Gestational Age Cut-Off for the Definition of Early- and Late-Onset Fetal Growth Restriction. *Fetal Diagn Ther.* 2014;36(2):99–105.
17. Platz E, Newman R. Diagnosis of IUGR: Traditional Biometry. *Semin Perinatol.* giugno 2008;32(3):140–7.
18. Sharma D, Farahbakhsh N, Shastri S, Sharma P. Intrauterine growth restriction – part 2. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 16 dicembre 2016;29(24):4037–48.
19. Salomon LJ, Malan V. Bilan étiologique du retard de croissance intra-utérin (RCIU). *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* dicembre 2013;42(8):929–40.
20. Gilbert W. Childbearing beyond age 40: pregnancy outcome in 24,032 cases. *Obstet Gynecol.* gennaio 1999;93(1):9–14.
21. Fang J, Madhavan S, Alderman MH. Low Birth Weight: Race and Maternal Nativity— Impact of Community Income. *Pediatrics.* 1 gennaio 1999;103(1):e5–e5.
22. Strobino DM, Ensminger ME, Kim YJ, Nanda J. Mechanisms for Maternal Age Differences in Birth Weight. *Am J Epidemiol.* 1 settembre 1995;142(5):504–14.
23. Black RE, Victora CG, Walker SP, Bhutta ZA, Christian P, de Onis M, et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *The Lancet.* agosto 2013;382(9890):427–51.
24. Wilcox MA, Smith SJ, Johnson IR, Maynard PV, Chilvers CED. The effect of social deprivation on birthweight, excluding physiological and pathological effects. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* novembre 1995;102(11):918–24.
25. Bakketeig LS, Hoffman HJ, Harley EE. The tendency to repeat gestational age and birth weight in successive births. *Am J Obstet Gynecol.* dicembre 1979;135(8):1086–103.
26. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and Very Low Birth Weight in Infants Conceived with Use of Assisted Reproductive Technology. *N Engl J Med.* 7 marzo 2002;346(10):731–7.

27. Zhu BP, Rolfs RT, Nangle BE, Horan JM. Effect of the Interval between Pregnancies on Perinatal Outcomes. *N Engl J Med.* 25 febbraio 1999;340(8):589–94.
28. Nomura RMY, Paiva LV, Costa VN, Liao AW, Zugaib M. [Influence of maternal nutritional status, weight gain and energy intake on fetal growth in high-risk pregnancies]. *Rev Bras Ginecol E Obstet Rev Fed Bras Soc Ginecol E Obstet.* marzo 2012;34(3):107–12.
29. Lundsberg LS, Bracken MB, Saftlas AF. Low-to-moderate gestational alcohol use and intrauterine growth retardation, low birthweight, and preterm delivery. *Ann Epidemiol.* ottobre 1997;7(7):498–508.
30. Keegan J, Parva M, Finnegan M, Gerson A, Belden M. Addiction in Pregnancy. *J Addict Dis.* 16 aprile 2010;29(2):175–91.
31. Goel P, Radotra A, Singh I, Aggarwal A, Dua D. Effects of passive smoking on outcome in pregnancy. *J Postgrad Med.* 2004;50(1):12–6.
32. Fernandez-Rodriguez B, Gomez AR, Jimenez Moreno BS, de Alba C, Galindo A, Villalain C, et al. Smoking influence on early and late fetal growth. *J Perinat Med.* 23 febbraio 2022;50(2):200–6.
33. Abraham M, Alramadhan S, Iniguez C, Duijts L, Jaddoe VWV, Den Dekker HT, et al. A systematic review of maternal smoking during pregnancy and fetal measurements with meta-analysis. Niaura R, curatore. *PLOS ONE.* 23 febbraio 2017;12(2):e0170946.
34. Jauniaux E, Burton GJ. Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke on the fetoplacental unit. *Early Hum Dev.* novembre 2007;83(11):699–706.
35. Kozuki N, Lee AC, Katz J. Moderate to Severe, but Not Mild, Maternal Anemia Is Associated with Increased Risk of Small-for-Gestational-Age Outcomes 3. *J Nutr.* febbraio 2012;142(2):358–62.
36. Krampfl E. Pregnancy at high altitude: Editorial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* giugno 2002;19(6):535–9.
37. Burton GJ, Jauniaux E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* febbraio 2018;218(2):S745–61.
38. Conroy AL, Silver KL, Zhong K, Rennie M, Ward P, Sarma JV, et al. Complement Activation and the Resulting Placental Vascular Insufficiency Drives Fetal Growth Restriction Associated with Placental Malaria. *Cell Host Microbe.* febbraio 2013;13(2):215–26.
39. Wilkins-Haug L, Quade B, Morton CC. Confined placental mosaicism as a risk factor among newborns with fetal growth restriction. *Prenat Diagn.* maggio 2006;26(5):428–32.
40. Snijders RJM, Sherrod C, Gosden CM, Nicolaidis KH. Fetal growth retardation: Associated malformations and chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol.* febbraio 1993;168(2):547–55.

41. Hendrix N, Berghella V. Non-Placental Causes of Intrauterine Growth Restriction. *Semin Perinatol.* giugno 2008;32(3):161–5.
42. Khoury MJ, Erickson JD, Cordero JF, McCarthy BJ. Congenital Malformations and Intrauterine Growth Retardation: A Population Study. *Pediatrics.* 1 luglio 1988;82(1):83–90.
43. Filipecka-Tyczka D, Jakiel G, Kajdy A, Rabijewski M. Is growth restriction in twin pregnancies a double challenge? - A narrative review. *J Mother Child.* 6 luglio 2021;24(4):24–30.
44. Nowakowska BA, Pankiewicz K, Nowacka U, Niemiec M, Kozłowski S, Issat T. Genetic Background of Fetal Growth Restriction. *Int J Mol Sci.* 21 dicembre 2021;23(1):36.
45. Lees CC, Stampalija T, Baschat AA, Silva Costa F, Ferrazzi E, Figueras F, et al. ISUOG Practice Guidelines: diagnosis and management of small-for-gestational-age fetus and fetal growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* agosto 2020;56(2):298–312.
46. Salomon LJ, Alfirevic Z, Da Silva Costa F, Deter RL, Figueras F, Ghi T, et al. ISUOG Practice Guidelines: ultrasound assessment of fetal biometry and growth. *Ultrasound Obstet Gynecol.* giugno 2019;53(6):715–23.
47. Bhide A, Acharya G, Baschat A, Bilardo CM, Brezinka C, Cafici D, et al. ISUOG Practice Guidelines (updated): use of Doppler velocimetry in obstetrics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* agosto 2021;58(2):331–9.
48. Levytska K, Higgins M, Keating S, Melamed N, Walker M, Sebire N, et al. Placental Pathology in Relation to Uterine Artery Doppler Findings in Pregnancies with Severe Intrauterine Growth Restriction and Abnormal Umbilical Artery Doppler Changes. *Am J Perinatol.* 20 settembre 2016;34(05):451–7.
49. Burton GJ, Woods AW, Jauniaux E, Kingdom JCP. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy. *Placenta.* giugno 2009;30(6):473–82.
50. Richardson BS, Bocking AD. Metabolic and Circulatory Adaptations to Chronic Hypoxia in the Fetus. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* marzo 1998;119(3):717–23.
51. Kiserud T, Kessler J, Ebbing C, Rasmussen S. Ductus venosus shunting in growth-restricted fetuses and the effect of umbilical circulatory compromise. *Ultrasound Obstet Gynecol.* agosto 2006;28(2):143–9.
52. Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* gennaio 2000;182(1):198–206.
53. Madden JV, Flatley CJ, Kumar S. Term small-for-gestational-age infants from low-risk women are at significantly greater risk of adverse neonatal outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* maggio 2018;218(5):525.e1-525.e9.

54. Boghossian NS, Geraci M, Edwards EM, Horbar JD. Morbidity and Mortality in Small for Gestational Age Infants at 22 to 29 Weeks' Gestation. *Pediatrics*. 1 febbraio 2018;141(2):e20172533.
55. Pilliod RA, Cheng YW, Snowden JM, Doss AE, Caughey AB. The risk of intrauterine fetal death in the small-for-gestational-age fetus. *Am J Obstet Gynecol*. ottobre 2012;207(4):318.e1-318.e6.
56. Baer RJ, Rogers EE, Partridge JC, Anderson JG, Morris M, Kuppermann M, et al. Population-based risks of mortality and preterm morbidity by gestational age and birth weight. *J Perinatol*. novembre 2016;36(11):1008–13.
57. Bozzetti V, Tagliabue PE, Visser GHA, Van Bel F, Gazzolo D. Feeding issues in IUGR preterm infants. *Early Hum Dev*. ottobre 2013;89:S21–3.
58. Flamant C, Gascoin G. Devenir précoce et prise en charge néonatale du nouveau-né petit pour l'âge gestationnel. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. dicembre 2013;42(8):985–95.
59. Doctor BA, O'Riordan MA, Kirchner HL, Shah D, Hack M. Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation. *Am J Obstet Gynecol*. settembre 2001;185(3):652–9.
60. Kesavan K, Devaskar SU. Intrauterine Growth Restriction. *Pediatr Clin North Am*. aprile 2019;66(2):403–23.
61. Hawdon JM, Weddell A, Aynsley-Green A, Ward Platt MP. Hormonal and metabolic response to hypoglycaemia in small for gestational age infants. *Arch Dis Child*. 1 marzo 1993;68(3 Spec No):269–73.
62. Mitanchez D. Ontogenèse de la régulation glycémique et conséquences pour la prise en charge du nouveau-né. *Arch Pédiatrie*. gennaio 2008;15(1):64–74.
63. Karlberg J, Albertsson-Wikland K. Growth in Full- Term Small-for-Gestational-Age Infants: From Birth to Final Height. *Pediatr Res*. novembre 1995;38(5):733–9.
64. Jaquet D, Collin D, Lévy-Marchal C, Czernichow P. Adult Height Distribution in Subjects Born Small for Gestational Age. *Horm Res Paediatr*. 2004;62(2):92–6.
65. Beukers F, Rotteveel J, Van Weissenbruch MM, Ganzevoort W, Van Goudoever JB, Van Wassenaer-Leemhuis AG. Growth throughout childhood of children born growth restricted. *Arch Dis Child*. agosto 2017;102(8):735–41.
66. Hokken-Koelega ACS, De Ridder MAJ, Lemmen RJ, Hartog HD, De Muinck Keizer-Schrama SMPF, Drop SLS. Children Born Small for Gestational Age: Do They Catch Up? *Pediatr Res*. agosto 1995;38(2):267–71.
67. Paz I. Are Children Born Small for Gestational Age at Increased Risk of Short Stature? *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1 marzo 1993;147(3):337.

68. Tenovuo A, Kero P, Piekkala P, Korvenranta H, Sillanpää M, Erkkola R. Growth of 519 Small for Gestational Age Infants during the First Two Years of Life. *Acta Paediatr.* luglio 1987;76(4):636–46.
69. Gibson AT, Carney S, Cavazzoni E, Wales JKH. Neonatal and Post-Natal Growth. *Horm Res Paediatr.* 2000;53(Suppl. 1):42–9.
70. Persson I, Ahlsson F, Ewald U, Tuvemo T, Qingyuan M, Rosen VD, et al. Influence of Perinatal Factors on the Onset of Puberty in Boys and Girls: Implications for Interpretation of Link with Risk of Long Term Diseases. *Am J Epidemiol.* 1 ottobre 1999;150(7):747–55.
71. Proos L, Gustafsson J. Is Early Puberty Triggered by Catch-Up Growth Following Undernutrition? *Int J Environ Res Public Health.* 9 maggio 2012;9(5):1791–809.
72. Leger J, Noel M, Limal JM, Czernichow P. Growth Factors and Intrauterine Growth Retardation. II. Serum Growth Hormone, Insulin-Like Growth Factor (IGF) I, and IGF-Binding Protein 3 Levels in Children with Intrauterine Growth Retardation. *Pediatr Res.* luglio 1996;40(1):101–7.
73. Clayton PE, Cianfarani S, Czernichow P, Johannsson G, Rapaport R, Rogol A. Management of the Child Born Small for Gestational Age through to Adulthood: A Consensus Statement of the International Societies of Pediatric Endocrinology and the Growth Hormone Research Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 marzo 2007;92(3):804–10.
74. Barker D. INFANT MORTALITY, CHILDHOOD NUTRITION, AND ISCHAEMIC HEART DISEASE IN ENGLAND AND WALES. *The Lancet.* maggio 1986;327(8489):1077–81.
75. Hales CN, Barker DJP. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull.* 1 novembre 2001;60(1):5–20.
76. Wang X, Cui Y, Tong X, Ye H, Li S. Glucose and Lipid Metabolism in Small-for-Gestational-Age Infants at 72 Hours of Age. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 febbraio 2007;92(2):681–4.
77. Hofman PL, Cutfield WS, Robinson EM, Bergman RN, Menon RK, Sperling MA, et al. Insulin Resistance in Short Children with Intrauterine Growth Retardation¹. *J Clin Endocrinol Metab.* febbraio 1997;82(2):402–6.
78. Potau N, Gussinyé M, Sanchez Ufarte C, Riqué S, Vicens-Calvet E, Carrascosa A. Hyperinsulinemia in Pre- and Post-Pubertal Children Born Small for Gestational Age. *Horm Res Paediatr.* 2001;56(5–6):146–50.
79. Rytter D, Bech BH, Frydenberg M, Henriksen TB, Olsen SF. Fetal growth and cardio-metabolic risk factors in the 20-year-old offspring. *Acta Obstet Gynecol Scand.* novembre 2014;93(11):1150–9.
80. Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia.* luglio 1992;35(7):595–601.

81. Veening MA, Van Weissenbruch MM, Heine RJ, Delemarre-van De Waal HA. β -Cell Capacity and Insulin Sensitivity in Prepubertal Children Born Small for Gestational Age. *Diabetes*. 1 luglio 2003;52(7):1756–60.
82. Ozanne SE, Jensen CB, Tingey KJ, Storgaard H, Madsbad S, Vaag AA. Low birthweight is associated with specific changes in muscle insulin-signalling protein expression. *Diabetologia*. marzo 2005;48(3):547–52.
83. Chan PYL, Morris JM, Leslie GI, Kelly PJ, Gallery EDM. The Long-Term Effects of Prematurity and Intrauterine Growth Restriction on Cardiovascular, Renal, and Metabolic Function. *Int J Pediatr*. 2010;2010:1–10.
84. Eriksson J, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D. Fetal and Childhood Growth and Hypertension in Adult Life. *Hypertension*. novembre 2000;36(5):790–4.
85. Martyn CN, Barker DJ, Jespersen S, Greenwald S, Osmond C, Berry C. Growth in utero, adult blood pressure, and arterial compliance. *Heart*. 1 febbraio 1995;73(2):116–21.
86. Yadav A, Beilin LJ, Huang RC, Vlaskovsky P, Newnham JP, White SW, et al. The relationship between intrauterine foetal growth trajectories and blood pressure in young adults. *J Hypertens* [Internet]. 8 novembre 2021 [citato 19 maggio 2023]; Publish Ahead of Print. Disponibile su: <https://journals.lww.com/10.1097/HJH.0000000000003035>
87. Martyn C, Greenwald S. Impaired synthesis of elastin in walls of aorta and large conduit arteries during early development as an initiating event in pathogenesis of systemic hypertension. *The Lancet*. settembre 1997;350(9082):953–5.
88. Martin H, Hu J, Gennser G, Norman M. Impaired Endothelial Function and Increased Carotid Stiffness in 9-Year-Old Children With Low Birthweight. *Circulation*. 28 novembre 2000;102(22):2739–44.
89. Castanys-Muñoz E, Kennedy K, Castañeda-Gutiérrez E, Forsyth S, Godfrey KM, Koletzko B, et al. Systematic review indicates postnatal growth in term infants born small-for-gestational-age being associated with later neurocognitive and metabolic outcomes. *Acta Paediatr*. agosto 2017;106(8):1230–8.
90. Bhargava SK, Sachdev HS, Fall CHD, Osmond C, Lakshmy R, Barker DJP, et al. Relation of Serial Changes in Childhood Body-Mass Index to Impaired Glucose Tolerance in Young Adulthood. *N Engl J Med*. 26 febbraio 2004;350(9):865–75.
91. Embleton ND, Korada M, Wood CL, Pearce MS, Swamy R, Cheetham TD. Catch-up growth and metabolic outcomes in adolescents born preterm. *Arch Dis Child*. novembre 2016;101(11):1026–31.
92. Ong YY, Sadananthan SA, Aris IM, Tint MT, Yuan WL, Huang JY, et al. Mismatch between poor fetal growth and rapid postnatal weight gain in the first 2 years of life is associated with higher blood pressure and insulin resistance

- without increased adiposity in childhood: the GUSTO cohort study. *Int J Epidemiol.* 1 ottobre 2020;49(5):1591–603.
93. Norris T, Crozier SR, Cameron N, Godfrey KM, Inskip H, Johnson W. Fetal growth does not modify the relationship of infant weight gain with childhood adiposity and blood pressure in the Southampton women's survey. *Ann Hum Biol.* 17 febbraio 2020;47(2):150–8.
94. Stettler N, Stallings VA, Troxel AB, Zhao J, Schinnar R, Nelson SE, et al. Weight Gain in the First Week of Life and Overweight in Adulthood: A Cohort Study of European American Subjects Fed Infant Formula. *Circulation.* 19 aprile 2005;111(15):1897–903.
95. Leunissen RWJ, Stijnen T, Hokken-Koelega ACS. Influence of birth size on body composition in early adulthood: the programming factors for growth and metabolism (PROGRAM)-study: *Influence of birth size on body composition.* *Clin Endocrinol (Oxf).* febbraio 2009;70(2):245–51.
96. Kerkhof GF, Willemsen RH, Leunissen RWJ, Breukhoven PE, Hokken-Koelega ACS. Health Profile of Young Adults Born Preterm: Negative Effects of Rapid Weight Gain in Early Life. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 dicembre 2012;97(12):4498–506.
97. Al Salmi I, Hannawi S. Birthweight and Lipids in Adult Life: Population-Based Cross Sectional Study. *Lipids.* luglio 2020;55(4):365–74.
98. Singhal A, Fewtrell M, Cole TJ, Lucas A. Low nutrient intake and early growth for later insulin resistance in adolescents born preterm. *The Lancet.* marzo 2003;361(9363):1089–97.
99. Singhal A, Cole TJ, Lucas A. Early nutrition in preterm infants and later blood pressure: two cohorts after randomised trials. *The Lancet.* febbraio 2001;357(9254):413–9.
100. Günther AL, Buyken AE, Kroke A. Protein intake during the period of complementary feeding and early childhood and the association with body mass index and percentage body fat at 7 y of age. *Am J Clin Nutr.* giugno 2007;85(6):1626–33.
101. Eriksson JG. Early growth and coronary heart disease in later life: longitudinal study. *BMJ.* 21 aprile 2001;322(7292):949–53.
102. Lawlor DA, Ronalds G, Clark H, Davey Smith G, Leon DA. Birth Weight Is Inversely Associated With Incident Coronary Heart Disease and Stroke Among Individuals Born in the 1950s: Findings From the Aberdeen Children of the 1950s Prospective Cohort Study. *Circulation.* 6 settembre 2005;112(10):1414–8.
103. Crispi F, Miranda J, Gratacós E. Long-term cardiovascular consequences of fetal growth restriction: biology, clinical implications, and opportunities for prevention of adult disease. *Am J Obstet Gynecol.* febbraio 2018;218(2):S869–79.
104. Crispi F, Figueras F, Cruz-Lemini M, Bartrons J, Bijmens B, Gratacos E. Cardiovascular programming in children born small for gestational age and

relationship with prenatal signs of severity. *Am J Obstet Gynecol.* agosto 2012;207(2):121.e1-121.e9.

105. Skilton MR, Viikari JSA, Juonala M, Laitinen T, Lehtimäki T, Taittonen L, et al. Fetal Growth and Preterm Birth Influence Cardiovascular Risk Factors and Arterial Health in Young Adults: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* dicembre 2011;31(12):2975–81.

106. Margherita Bernetti, Rosanna Abbate, Gabriele Cerini, Gian Franco Gensini, Loredana Poggesi, Maria Boddi. Spessore intima-media carotideo e femorale come marker precoci di aterosclerosi. I vantaggi, i limiti. *G Ital Cardiol* [Internet]. 1 gennaio 2011 [citato 19 maggio 2023];(2011 Gennaio). Disponibile su: <https://doi.org/10.1714/547.6501>

107. Sacchi C, Marino C, Nosarti C, Vieno A, Visentin S, Simonelli A. Association of Intrauterine Growth Restriction and Small for Gestational Age Status With Childhood Cognitive Outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 1 agosto 2020;174(8):772.

108. Løhaugen GCC, Østgård HF, Andreassen S, Jacobsen GW, Vik T, Brubakk AM, et al. Small for Gestational Age and Intrauterine Growth Restriction Decreases Cognitive Function in Young Adults. *J Pediatr.* agosto 2013;163(2):447-453.e1.

109. Benítez Marín MJ, Blanco Elena JA, Marín Clavijo J, Jiménez López J, Lubián López DM, González Mesa E. Neurodevelopment Outcome in Children with Fetal Growth Restriction at Six Years of Age: A Retrospective Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health.* 3 settembre 2022;19(17):11043.

110. Lundgren EM, Cnattingius S, Jonsson B, Tuvemo T. Intellectual and Psychological Performance in Males Born Small for Gestational Age With and Without Catch-Up Growth. *Pediatr Res.* luglio 2001;50(1):91–6.

111. Kovacs CS. Calcium, phosphorus, and bone metabolism in the fetus and newborn. *Early Hum Dev.* novembre 2015;91(11):623–8.

112. Gallo S, McDermid JM, Al-Nimr RI, Hakeem R, Moreschi JM, Parke-Keener M, et al. Vitamin D Supplementation during Pregnancy: An Evidence Analysis Center Systematic Review and Meta-Analysis. *J Acad Nutr Diet.* maggio 2020;120(5):898-924.e4.

113. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O’Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ.* 26 marzo 2013;346:f1169.

114. Ryan BA, Kovacs CS. Maternal and fetal vitamin D and their roles in mineral homeostasis and fetal bone development. *J Endocrinol Invest.* aprile 2021;44(4):643–59.

115. Pilz S, Zittermann A, Obeid R, Hahn A, Pludowski P, Trummer C, et al. The Role of Vitamin D in Fertility and during Pregnancy and Lactation: A Review of Clinical Data. *Int J Environ Res Public Health.* 12 ottobre 2018;15(10):2241.

116. Young B, O'Dowd G, Woodford P. Wheater's functional histology: a text and colour atlas. Sixth edition. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier; 2014. 452 p.
117. Trattato di anatomia umana. 4. ed. Milano: Edi-Ermes; 2006.
118. Chacham S, Pasi R, Chegondi M, Ahmad N, Mohanty SB. Metabolic Bone Disease in Premature Neonates: An Unmet Challenge. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 25 novembre 2020;12(4):332–9.
119. Frost HM. Perspectives: A proposed general model of the “mechanostat” (suggestions from a new skeletal-biologic paradigm). *Anat Rec.* febbraio 1996;244(2):139–47.
120. Miller ME. The Bone Disease of Preterm Birth: A Biomechanical Perspective. *Pediatr Res.* gennaio 2003;53(1):10–5.
121. Perrone M, Casirati A, Stagi S, Amato O, Piemontese P, Liotto N, et al. Don't Forget the Bones: Incidence and Risk Factors of Metabolic Bone Disease in a Cohort of Preterm Infants. *Int J Mol Sci.* 14 settembre 2022;23(18):10666.
122. Wang J, Zhao Q, Chen B, Sun J, Huang J, Meng J, et al. Risk factors for metabolic bone disease of prematurity: A meta-analysis. Miao D, curatore. *PLOS ONE.* 13 giugno 2022;17(6):e0269180.
123. Chen H, Miller S, Lane R, Moyer-Mileur L. Intrauterine Growth Restriction Decreases Endochondral Ossification and Bone Strength in Female Rats. *Am J Perinatol.* 8 agosto 2012;30(04):261–6.
124. Chinoy A, Mughal MZ, Padidela R. Metabolic bone disease of prematurity: causes, recognition, prevention, treatment and long-term consequences. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* settembre 2019;104(5):F560–6.
125. Nehra D, Carlson SJ, Fallon EM, Kalish B, Potemkin AK, Gura KM, et al. A.S.P.E.N. Clinical Guidelines: Nutrition Support of Neonatal Patients at Risk for Metabolic Bone Disease. *J Parenter Enter Nutr.* settembre 2013;37(5):570–98.
126. Vorland CJ, Stremke ER, Moorthi RN, Hill Gallant KM. Effects of Excessive Dietary Phosphorus Intake on Bone Health. *Curr Osteoporos Rep.* ottobre 2017;15(5):473–82.
127. Nguyen KD, Bagheri B, Bagheri H. Drug-induced bone loss: a major safety concern in Europe. *Expert Opin Drug Saf.* 3 ottobre 2018;17(10):1005–14.
128. Chen W, Yang C, Chen H, Zhang B. Risk factors analysis and prevention of metabolic bone disease of prematurity. *Medicine (Baltimore).* ottobre 2018;97(42):e12861.
129. Bozzetti V, Tagliabue P. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues. *Ital J Pediatr.* 2009;35(1):20.
130. Högberg U, Andersson J, Högberg G, Thiblin I. Metabolic bone disease risk factors strongly contributing to long bone and rib fractures during early

infancy: A population register study. Blank RD, curatore. PLOS ONE. 19 dicembre 2018;13(12):e0208033.

131. Viswanathan S, Khasawneh W, McNelis K, Dykstra C, Amstadt R, Super DM, et al. Metabolic Bone Disease: A Continued Challenge in Extremely Low Birth Weight Infants. *J Parenter Enter Nutr.* novembre 2014;38(8):982–90.
132. Horsman A, Ryan SW, Congdon PJ, Truscott JG, Simpson M. Bone mineral content and body size 65 to 100 weeks' postconception in preterm and full term infants. *Arch Dis Child.* 1 novembre 1989;64(11):1579–86.
133. Congdon PJ, Horsman A, Ryan SW, Truscott JG, Durward H. Spontaneous resolution of bone mineral depletion in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1 ottobre 1990;65(10 Spec No):1038–42.
134. Abou Samra H, Stevens D, Binkley T, Specker B. Determinants of bone mass and size in 7-year-old former term, late-preterm, and preterm boys. *Osteoporos Int.* novembre 2009;20(11):1903–10.
135. Xie LF, Alos N, Cloutier A, Béland C, Dubois J, Nuyt AM, et al. The long-term impact of very preterm birth on adult bone mineral density. *Bone Rep.* giugno 2019;10:100189.
136. Kovar I, Mayne P. PLASMA ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN THE PRETERM NEONATE. *Acta Paediatr.* luglio 1981;70(4):501–6.
137. Rayannavar A, Calabria AC. Screening for Metabolic Bone Disease of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med.* febbraio 2020;25(1):101086.
138. Hung YL, Chen PC, Jeng SF, Hsieh CJ, Peng SSF, Yen RF, et al. Serial measurements of serum alkaline phosphatase for early prediction of osteopaenia in preterm infants: Measurements of serum alkaline phosphatase. *J Paediatr Child Health.* marzo 2011;47(3):134–9.
139. Abdallah EAA, Said RN, Mosallam DS, Moawad EMI, Kamal NM, Fathallah MGED. Serial serum alkaline phosphatase as an early biomarker for osteopenia of prematurity. *Medicine (Baltimore).* settembre 2016;95(37):e4837.
140. Angelika D, Etika R, Mapindra MP, Utomo MT, Rahardjo P, Ugrasena DIG. Associated neonatal and maternal factors of osteopenia of prematurity in low resource setting: A cross-sectional study. *Ann Med Surg [Internet].* aprile 2021 [citato 24 maggio 2023];64. Disponibile su: <https://journals.lww.com/10.1016/j.amsu.2021.102235>
141. Backström M, Kouri T, Kuusela AL, Sievänen H, Koivisto AM, Ikonen R, et al. Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase and serum inorganic phosphate in metabolic bone disease of prematurity. *Acta Paediatr.* luglio 2000;89(7):867–73.
142. Lee J, Park HK, Kim JH, Choi YY, Lee HJ. Bone Mineral Density According to Dual Energy X-ray Absorptiometry is Associated with Serial Serum Alkaline Phosphatase Level in Extremely Low Birth Weight Infants at Discharge. *Pediatr Neonatol.* giugno 2017;58(3):251–7.

143. Moreira A, Swischuk L, Malloy M, Mudd D, Blanco C, Geary C. Parathyroid hormone as a marker for metabolic bone disease of prematurity. *J Perinatol.* ottobre 2014;34(10):787–91.
144. Kehinde F, Marinescu A, Turchi R. Catch it before it breaks!: managing metabolic bone disease of prematurity. *Curr Opin Pediatr.* dicembre 2021;33(6):676–83.
145. Faienza MF, D’Amato E, Natale MP, Grano M, Chiarito M, Brunetti G, et al. Metabolic Bone Disease of Prematurity: Diagnosis and Management. *Front Pediatr.* 12 aprile 2019;7:143.
146. Czech-Kowalska J, Czekuc-Kryskiewicz E, Pludowski P, Zaniuk K, Jaworski M, Łuba A, et al. The Clinical and Biochemical Predictors of Bone Mass in Preterm Infants. Chen JR, curatore. *PLOS ONE.* 2 novembre 2016;11(11):e0165727.
147. Abrams SA, the COMMITTEE ON NUTRITION, Bhatia JJS, Abrams SA, Corkins MR, De Ferranti SD, et al. Calcium and Vitamin D Requirements of Enterally Fed Preterm Infants. *Pediatrics.* 1 maggio 2013;131(5):e1676–83.
148. Koo WW, Gupta JM, Nayanar VV, Wilkinson M, Posen S. Skeletal changes in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1 giugno 1982;57(6):447–52.
149. Done SL. Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease. *Pediatr Radiol.* gennaio 2012;42(S1):158–76.
150. Betto M, Gaio P, Ferrini I, De Terlizzi F, Zambolin M, Scattolin S, et al. Assessment of bone health in preterm infants through quantitative ultrasound and biochemical markers. *J Matern Fetal Neonatal Med.* settembre 2014;27(13):1343–7.
151. Ritschl E, Wehmeijer K, De Terlizzi F, Wipfler E, Cadossi R, Douma D, et al. Assessment of Skeletal Development in Preterm and Term Infants by Quantitative Ultrasound. *Pediatr Res.* agosto 2005;58(2):341–6.
152. Tong L, Gopal-Kothandapani JS, Offiah AC. Feasibility of quantitative ultrasonography for the detection of metabolic bone disease in preterm infants — systematic review. *Pediatr Radiol.* ottobre 2018;48(11):1537–49.
153. Gaio P, Verlato G, Daverio M, Cavicchiolo ME, Nardo D, Pasinato A, et al. Incidence of metabolic bone disease in preterm infants of birth weight <1250 g and in those suffering from bronchopulmonary dysplasia. *Clin Nutr ESPEN.* febbraio 2018;23:234–9.
154. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli V, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral Nutrient Supply for Preterm Infants: Commentary From the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* gennaio 2010;50(1):85–91.
155. Peila C, Spada E, Giuliani F, Maiocco G, Raia M, Cresi F, et al. Extrauterine Growth Restriction: Definitions and Predictability of Outcomes in a

Cohort of Very Low Birth Weight Infants or Preterm Neonates. *Nutrients*. 26 aprile 2020;12(5):1224.

156. Stevens TP, Shields E, Campbell D, Combs A, Horgan M, La Gamma EF, et al. Statewide Initiative to Reduce Postnatal Growth Restriction among Infants <31 Weeks of Gestation. *J Pediatr*. giugno 2018;197:82-89.e2.
157. Sakurai M, Itabashi K, Sato Y, Hibino S, Mizuno K. Extrauterine growth restriction in preterm infants of gestational age ≤ 32 weeks. *Pediatr Int*. febbraio 2008;50(1):70–5.
158. Wang YS, Shen W, Wu F, Mao J, Liu L, Chang YM, et al. Factors influencing extrauterine growth retardation in singleton-non-small for gestational age infants in China: A prospective multicenter study. *Pediatr Neonatol*. novembre 2022;63(6):590–8.
159. Maheshwari A, Bagga N, Panigrahy N. Extra-uterine Growth Restriction in Preterm Infants. *Newborn*. 31 marzo 2022;1(1):67–73.
160. Makker K, Ji Y, Hong X, Wang X. Antenatal and neonatal factors contributing to extra uterine growth failure (EUGR) among preterm infants in Boston Birth Cohort (BBC). *J Perinatol*. maggio 2021;41(5):1025–32.
161. Dupont C, Armant D, Brenner C. Epigenetics: Definition, Mechanisms and Clinical Perspective. *Semin Reprod Med*. settembre 2009;27(05):351–7.
162. Tozzi MG, Moscuza F, Michelucci A, Lorenzoni F, Cosini C, Ciantelli M, et al. ExtraUterine Growth Restriction (EUGR) in Preterm Infants: Growth Patterns, Nutrition, and Epigenetic Markers. A Pilot Study. *Front Pediatr*. 20 dicembre 2018;6:408.
163. Doan TNA, Akison LK, Bianco-Miotto T. Epigenetic Mechanisms Responsible for the Transgenerational Inheritance of Intrauterine Growth Restriction Phenotypes. *Front Endocrinol*. 31 marzo 2022;13:838737.
164. Fan S, Zhang K, Lv A, Ma Y, Fang X, Zhang J. Characteristics of the intestinal microbiota and metabolism in infants with extrauterine growth restriction. *Transl Pediatr*. maggio 2021;10(5):1259–70.
165. Dudzik D, Iglesias Platas I, Izquierdo Renau M, Balcells Esponera C, Del Rey Hurtado De Mendoza B, Lerin C, et al. Plasma Metabolome Alterations Associated with Extrauterine Growth Restriction. *Nutrients*. 23 aprile 2020;12(4):1188.
166. Li J, Funato M, Tamai H, Wada H, Nishihara M, Morita T, et al. Impact of intra- and extrauterine growth on bone mineral density and content in the neonatal period of very-low-birth-weight infants. *Early Hum Dev*. gennaio 2016;92:1–6.
167. Pampanini V, Boiani A, De Marchis C, Giacomozzi C, Navas R, Agostino R, et al. Preterm infants with severe extrauterine growth retardation (EUGR) are at high risk of growth impairment during childhood. *Eur J Pediatr*. gennaio 2015;174(1):33–41.

168. Martínez-Jiménez M, Gómez-García F, Gil-Campos M, Pérez-Navero J. Comorbidities in childhood associated with extrauterine growth restriction in preterm infants: a scoping review. *Eur J Pediatr.* agosto 2020;179(8):1255–65.
169. Ordóñez-Díaz MD, Pérez-Navero JL, Flores-Rojas K, Olza-Meneses J, Muñoz-Villanueva MC, Aguilera-García CM, et al. Prematurity With Extrauterine Growth Restriction Increases the Risk of Higher Levels of Glucose, Low-Grade of Inflammation and Hypertension in Prepubertal Children. *Front Pediatr.* 21 aprile 2020;8:180.
170. Skinner AM, Narchi H. Preterm nutrition and neurodevelopmental outcomes. *World J Methodol.* 20 novembre 2021;11(6):278–93.
171. Embleton ND, Moltu SJ, Lapillonne A, Van Den Akker CHP, Carnielli V, Fusch C, et al. Enteral Nutrition in Preterm Infants (2022): A Position Paper from the ESPGHAN Committee on Nutrition and invited experts. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 21 ottobre 2022 [citato 5 giugno 2023]; Publish Ahead of Print. Disponibile su: <https://journals.lww.com/10.1097/MPG.0000000000003642>
172. Thureen PJ, Hay WW. Early aggressive nutrition in preterm infants. *Semin Neonatol.* ottobre 2001;6(5):403–15.
173. Lane RH. Fetal Programming, Epigenetics, and Adult Onset Disease. *Clin Perinatol.* dicembre 2014;41(4):815–31.
174. Darmaun D, Lapillonne A, Simeoni U, Picaud JC, Rozé JC, Saliba E, et al. Parenteral nutrition for preterm infants: Issues and strategy. *Arch Pédiatrie.* maggio 2018;25(4):286–94.
175. Hartman C, Shamir R, Simchowit V, Lohner S, Cai W, Decsi T, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Complications. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2418–29.
176. Salas AA, Kabani N, Travers CP, Phillips V, Ambalavanan N, Carlo WA. Short versus Extended Duration of Trophic Feeding to Reduce Time to Achieve Full Enteral Feeding in Extremely Preterm Infants: An Observational Study. *Neonatology.* 2017;112(3):211–6.
177. Elia S, Ciarcià M, Miselli F, Bertini G, Dani C. Effect of selective gastric residual monitoring on enteral intake in preterm infants. *Ital J Pediatr.* dicembre 2022;48(1):30.
178. Hossain Z, Qasem WA, Friel JK, Omri A. Effects of Total Enteral Nutrition on Early Growth, Immunity, and Neuronal Development of Preterm Infants. *Nutrients.* 11 agosto 2021;13(8):2755.
179. Arslanoglu S, Boquien CY, King C, Lamireau D, Tonetto P, Barnett D, et al. Fortification of Human Milk for Preterm Infants: Update and Recommendations of the European Milk Bank Association (EMBA) Working Group on Human Milk Fortification. *Front Pediatr.* 22 marzo 2019;7:76.

180. Bertino E, Giuliani F, Baricco M, Di Nicola P, Peila C, Vassia C, et al. Benefits of donor milk in the feeding of preterm infants. *Early Hum Dev.* ottobre 2013;89:S3–6.
181. Lau C. Development of Suck and Swallow Mechanisms in Infants. *Ann Nutr Metab.* 2015;66(Suppl. 5):7–14.
182. Wang Y, Zhu W, Luo B ru. Continuous feeding versus intermittent bolus feeding for premature infants with low birth weight: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr.* maggio 2020;74(5):775–83.
183. Foster JP, Psaila K, Patterson T. Non-nutritive sucking for increasing physiologic stability and nutrition in preterm infants. Cochrane Neonatal Group, curatore. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 4 ottobre 2016 [citato 16 giugno 2023];2017(3). Disponibile su:
<http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD001071.pub3>
184. Abiramalatha T, Thanigainathan S, Ninan B. Routine monitoring of gastric residual for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. Cochrane Neonatal Group, curatore. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 9 luglio 2019 [citato 5 giugno 2023]; Disponibile su:
<https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD012937.pub2>
185. WHO recommendations for care of the preterm or low-birth-weight infant. Geneva: World Health Organization; 2022.
186. Mihatsch W, Shamir R, Van Goudoever JB, Fewtrell M, Lapillonne A, Lohner S, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Guideline development process for the updated guidelines. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2306–8.
187. Rizzo V, Capozza M, Panza R, Laforgia N, Baldassarre ME. Macronutrients and Micronutrients in Parenteral Nutrition for Preterm Newborns: A Narrative Review. *Nutrients.* 6 aprile 2022;14(7):1530.
188. Jochum F, Moltu SJ, Senterre T, Nomayo A, Goulet O, Iacobelli S, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Fluid and electrolytes. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2344–53.
189. Joosten K, Embleton N, Yan W, Senterre T, Braegger C, Bronsky J, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Energy. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2309–14.
190. Van Goudoever JB, Carnielli V, Darmaun D, Sainz De Pipaon M, Braegger C, Bronsky J, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Amino acids. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2315–23.
191. Lapillonne A, Fidler Mis N, Goulet O, Van Den Akker CHP, Wu J, Koletzko B, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Lipids. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2324–36.
192. Robinson DT, Martin CR. Fatty acid requirements for the preterm infant. *Semin Fetal Neonatal Med.* febbraio 2017;22(1):8–14.

193. Mesotten D, Joosten K, Van Kempen A, Verbruggen S, Braegger C, Bronsky J, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Carbohydrates. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2337–43.
194. Mihatsch W, Fewtrell M, Goulet O, Molgaard C, Picaud JC, Senterre T, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Calcium, phosphorus and magnesium. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2360–5.
195. Bronsky J, Campoy C, Braegger C, Braegger C, Bronsky J, Cai W, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Vitamins. *Clin Nutr.* dicembre 2018;37(6):2366–78.
196. Carraro S, Giordano G, Reniero F, Perilongo G, Baraldi E. Metabolomics: A New Frontier for Research in Pediatrics. *J Pediatr.* maggio 2009;154(5):638–44.
197. Bujak R, Struck-Lewicka W, Markuszewski MJ, Kaliszan R. Metabolomics for laboratory diagnostics. *J Pharm Biomed Anal.* settembre 2015;113:108–20.
198. Fraga-Corral M, Carpena M, Garcia-Oliveira P, Pereira AG, Prieto MA, Simal-Gandara J. Analytical Metabolomics and Applications in Health, Environmental and Food Science. *Crit Rev Anal Chem.* 19 maggio 2022;52(4):712–34.
199. Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* luglio 2016;17(7):451–9.
200. Renwick VL, Stewart CJ. Exploring functional metabolites in preterm infants. *Acta Paediatr.* gennaio 2022;111(1):45–53.
201. Noto A, Fanos V, Dessì A. Metabolomics in Newborns. In: *Advances in Clinical Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2016 [citato 5 giugno 2023]. p. 35–61. Disponibile su: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065242315300068>
202. Marincola FC, Dessì A, Pattumelli MG, Corbu S, Ossicini C, Ciccarelli S, et al. 1H NMR-based urine metabolic profile of IUGR, LGA, and AGA newborns in the first week of life. *Clin Chim Acta.* dicembre 2015;451:28–34.
203. Dessì A, Atzori L, Noto A, Adriaan Visser GH, Gazzolo D, Zanardo V, et al. Metabolomics in newborns with intrauterine growth retardation (IUGR): urine reveals markers of metabolic syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* ottobre 2011;24(sup2):35–9.
204. Beken S, Abali S, Yildirim Saral N, Guner B, Dinc T, Albayrak E, et al. Early Postnatal Metabolic Profile in Neonates With Different Birth Weight Status: A Pilot Study. *Front Pediatr.* 27 aprile 2021;9:646860.
205. Perrone S, Laschi E, De Bernardo G, Giordano M, Vanacore F, Tassini M, et al. Newborn metabolomic profile mirrors that of mother in pregnancy. *Med Hypotheses.* aprile 2020;137:109543.
206. Gil AM, Duarte D. Biofluid Metabolomics in Preterm Birth Research. *Reprod Sci.* luglio 2018;25(7):967–77.

207. Pintus R, Dessì A, Mussap M, Fanos V. Metabolomics can provide new insights into perinatal nutrition. *Acta Paediatr.* febbraio 2023;112(2):233–41.
208. Isganaitis E, Venditti S, Matthews TJ, Lerin C, Demerath EW, Fields DA. Maternal obesity and the human milk metabolome: associations with infant body composition and postnatal weight gain. *Am J Clin Nutr.* luglio 2019;110(1):111–20.
209. Dessì A, Murgia A, Agostino R, Pattumelli M, Schirru A, Scano P, et al. Exploring the Role of Different Neonatal Nutrition Regimens during the First Week of Life by Urinary GC-MS Metabolomics. *Int J Mol Sci.* 22 febbraio 2016;17(2):265.
210. Brink LR, Mercer KE, Piccolo BD, Chintapalli SV, Elolimy A, Bowlin AK, et al. Neonatal diet alters fecal microbiota and metabolome profiles at different ages in infants fed breast milk or formula. *Am J Clin Nutr.* giugno 2020;111(6):1190–202.
211. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* dicembre 2013;13(1):59.
212. Finster M, Wood M, Raja SN. The Apgar Score Has Survived the Test of Time. *Anesthesiology.* 1 aprile 2005;102(4):855–7.
213. Parry G, Tucker J, Tarnow-Mordi W. CRIB II: an update of the clinical risk index for babies score. *The Lancet.* maggio 2003;361(9371):1789–91.
214. Kim MJ. Enteral nutrition for optimal growth in preterm infants. *Korean J Pediatr.* 2016;59(12):466.
215. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am.* febbraio 2013;60(1):49–74.
216. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatr.* 30 agosto 2014;14:216.
217. McDevitt H, Ahmed SF. Quantitative Ultrasound Assessment of Bone Health in the Neonate. *Neonatology.* 2007;91(1):2–11.
218. Sumner LW, Amberg A, Barrett D, Beale MH, Beger R, Daykin CA, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics.* 19 settembre 2007;3(3):211–21.
219. Likhar A, Patil MS. Importance of Maternal Nutrition in the First 1,000 Days of Life and Its Effects on Child Development: A Narrative Review. *Cureus* [Internet]. 8 ottobre 2022 [citato 22 giugno 2023]; Disponibile su: <https://www.cureus.com/articles/114933-importance-of-maternal-nutrition-in-the-first-1000-days-of-life-and-its-effects-on-child-development-a-narrative-review>
220. Sharma D, Shastri S, Sharma P. Intrauterine Growth Restriction: Antenatal and Postnatal Aspects. *Clin Med Insights Pediatr.* gennaio 2016;10:CMPed.S40070.

221. Boehm G, Gedlu E, Müller DM, Beyreiss K, Rähä NC. Relationship between urea and ammonium excretion in the urine of very-low-birth-weight infants appropriate for gestational age. *Biomed Biochim Acta*. 1990;49(1):69–74.
222. Boehm G, Gedlu E, Müller MD, Beyreiss K, Rähä NC. Postnatal development of urea- and ammonia-excretion in urine of very-low-birth-weight infants small for gestational age. *Acta Paediatr Hung*. 1991;31(1):31–45.
223. De Boo HA, Harding JE. Protein metabolism in preterm infants with particular reference to intrauterine growth restriction. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed*. 24 gennaio 2007;92(4):F315–9.
224. Buonocore G, Bracci R, Weindling M, curatori. *Neonatology: A Practical Approach to Neonatal Diseases* [Internet]. Milano: Springer Milan; 2012 [citato 22 giugno 2023]. Disponibile su: <http://link.springer.com/10.1007/978-88-470-1405-3>
225. Bonsante F, Iacobelli S, Latorre G, Rigo J, De Felice C, Robillard PY, et al. Initial Amino Acid Intake Influences Phosphorus and Calcium Homeostasis in Preterm Infants – It Is Time to Change the Composition of the Early Parenteral Nutrition. Chavatte-Palmer P, curatore. *PLoS ONE*. 15 agosto 2013;8(8):e72880.
226. Ichikawa G, Watabe Y, Suzumura H, Sairenchi T, Muto T, Arisaka O. Hypophosphatemia in small for gestational age extremely low birth weight infants receiving parenteral nutrition in the first week after birth. *J Pediatr Endocrinol Metab* [Internet]. 1 gennaio 2012 [citato 22 giugno 2023];25(3–4). Disponibile su: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem-2011-0485/html>
227. Pająk A, Królak-Olejniak B, Szafrńska A. Early hypophosphatemia in very low birth weight preterm infants. *Adv Clin Exp Med*. 30 giugno 2018;27(6):841–7.
228. Moltu SJ, Strømmen K, Blakstad EW, Almaas AN, Westerberg AC, Brække K, et al. Enhanced feeding in very-low-birth-weight infants may cause electrolyte disturbances and septicemia – A randomized, controlled trial. *Clin Nutr*. aprile 2013;32(2):207–12.
229. Mizumoto H, Mikami M, Oda H, Hata D. Refeeding syndrome in a small-for-dates micro-preemie receiving early parenteral nutrition: Refeeding syndrome in a SGA micro-preemie. *Pediatr Int*. ottobre 2012;54(5):715–7.
230. Crook MA. Refeeding syndrome: Problems with definition and management. *Nutrition*. novembre 2014;30(11–12):1448–55.
231. Cubillos Celis MP, Mena Nannig P. Hipofosfemia en recién nacidos prematuros: un trastorno bimodal. *Rev Chil Pediatría*. febbraio 2018;89(1):10–7.
232. Beltrand J, Alison M, Nicolescu R, Verkauskiene R, Deghmoun S, Sibony O, et al. Bone Mineral Content at Birth Is Determined Both by Birth Weight and Fetal Growth Pattern. *Pediatr Res*. luglio 2008;64(1):86–90.

233. Leaf A, Dorling J, Kempley S, McCormick K, Mannix P, Linsell L, et al. Early or Delayed Enteral Feeding for Preterm Growth-Restricted Infants: A Randomized Trial. *Pediatrics*. 1 maggio 2012;129(5):e1260–8.
234. Morgan J, Bombell S, McGuire W. Early trophic feeding versus enteral fasting for very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Neonatal Group*, curatore. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 28 marzo 2013 [citato 22 giugno 2023]; Disponibile su: <https://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD000504.pub4>
235. Khalid S, Beg K, Ambad R. Study of Lipid Profile in Cases of Intrauterine Growth Retardation. *Int J Med Res Prof* [Internet]. settembre 2016 [citato 22 giugno 2023];2(5). Disponibile su: <http://ijmrp.com/Article.aspx?id=271&volume=2&issue=5&type=1>
236. Verma V, Karki B, Gupta SK, Jahan I, Shabuj MKH, Moni SC, et al. Serum Lipid Profile in Newborns with Intrauterine Growth Retardation and Its Comparison with Appropriate for Gestation Age Newborns. *Asian J Pediatr Res*. 6 giugno 2022;12–23.
237. Bose C, Van Marter LJ, Laughon M, O’Shea TM, Allred EN, Karna P, et al. Fetal Growth Restriction and Chronic Lung Disease Among Infants Born Before the 28th Week of Gestation. *Pediatrics*. 1 settembre 2009;124(3):e450–8.
238. Uberos J, Lardón-Fernández M, Machado-Casas I, Molina-Oya M, Narbona-López E. Nutrition in extremely low birth weight infants: impact on bronchopulmonary dysplasia. *Minerva Pediatr*. dicembre 2016;68(6):419–26.
239. Galán Arévalo MS, Mahillo-Fernández I, Saenz De Pipaon M, Esteban LM, Hernández Martín D, Rodríguez Delgado J, et al. Postnatal catch-up growth in term newborns with altered fetal weight patterns. The GROWIN study. *Pediatr Res* [Internet]. 17 aprile 2023 [citato 22 giugno 2023]; Disponibile su: <https://www.nature.com/articles/s41390-023-02593-3>
240. Hendrix MLE, Van Kuijk SMJ, El Bahaey SE, Gerver WJM, Feron FJM, Kuin ME, et al. ‘Postnatal growth during the first five years of life in SGA and AGA neonates with reduced fetal growth’. *Early Hum Dev*. dicembre 2020;151:105199.
241. Izquierdo Renau, Aldecoa-Bilbao, Esponera, Mendoza, Sanz, Iglesias-Platas. Applying Methods for Postnatal Growth Assessment in the Clinical Setting: Evaluation in a Longitudinal Cohort of Very Preterm Infants. *Nutrients*. 14 novembre 2019;11(11):2772.
242. Tonkin EL, Collins CT, Miller J. Protein Intake and Growth in Preterm Infants: A Systematic Review. *Glob Pediatr Health*. 1 gennaio 2014;1:2333794X1455469.
243. Cormack BE, Harding JE, Miller SP, Bloomfield FH. The Influence of Early Nutrition on Brain Growth and Neurodevelopment in Extremely Preterm Babies: A Narrative Review. *Nutrients*. 30 agosto 2019;11(9):2029.

244. Poindexter BB, Martin CR. Impact of Nutrition on Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Perinatol.* dicembre 2015;42(4):797–806.
245. Pichler J, Chomtho S, Fewtrell M, Macdonald S, Hill SM. Growth and bone health in pediatric intestinal failure patients receiving long-term parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* giugno 2013;97(6):1260–9.
246. Yoon SA, Lee MH, Chang YS. Impact of time to full enteral feeding on long-term neurodevelopment without mediating by postnatal growth failure in very-low-birth-weight-infants. *Sci Rep.* 20 febbraio 2023;13(1):2990.
247. Scattolin S, Gaio P, Betto M, Palatron S, De Terlizzi F, Intini F, et al. Parenteral amino acid intakes: possible influences of higher intakes on growth and bone status in preterm infants. *J Perinatol.* gennaio 2013;33(1):33–9.
248. Rigo J, Senterre J. Nutritional needs of premature infants: Current Issues. *J Pediatr.* novembre 2006;149(5):S80–8.
249. Mohamed M, Kamleh M, Muzzy J, Groh-Wargo S, Abu-Shaweesh J. Association of Protein and Vitamin D Intake With Biochemical Markers in Premature Osteopenic Infants: A Case-Control Study. *Front Pediatr.* 24 novembre 2020;8:546544.
250. Backstrom MC, Maki R, Kuusela AL, Sievanen H, Koivisto AM, Ikonen RS, et al. Randomised controlled trial of vitamin D supplementation on bone density and biochemical indices in preterm infants. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* 1 maggio 1999;80(3):F161–6.
251. McIntosh N, Livesey A, Brooke OG. Plasma 25-hydroxyvitamin D and rickets in infants of extremely low birthweight. *Arch Dis Child.* 1 novembre 1982;57(11):848–50.
252. Kraut JA. The Role of Metabolic Acidosis in the Pathogenesis of Renal Osteodystrophy. *Adv Ren Replace Ther.* gennaio 1995;2(1):40–51.
253. Pinto MRC, Machado MMT, De Azevedo DV, Correia LL, Leite ÁJM, Rocha HAL. Osteopenia of prematurity and associated nutritional factors: case-control study. *BMC Pediatr.* 1 settembre 2022;22(1):519.
254. Regnault TRH, De Vrijer B, Battaglia FC. Transport and Metabolism of Amino Acids in Placenta. *Endocrine.* 2002;19(1):23–42.
255. Kudo Y, Boyd CA. Characterisation of L-tryptophan transporters in human placenta: a comparison of brush border and basal membrane vesicles. *J Physiol.* 1 marzo 2001;531(Pt 2):405–16.
256. Comai S, Bertazzo A, Brughera M, Crotti S. Tryptophan in health and disease. In: *Advances in Clinical Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2020 [citato 24 giugno 2023]. p. 165–218. Disponibile su: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065242319300745>
257. Murthi P, Wallace EM, Walker DW. Altered placental tryptophan metabolic pathway in human fetal growth restriction. *Placenta.* aprile 2017;52:62–70.

258. Hernandez-Rodriguez J, Meneses L, Herrera R, Manjarrez G. Another Abnormal Trait in the Serotonin Metabolism Path in Intrauterine Growth-Restricted Infants. *Neonatology*. 2009;95(2):125–31.
259. Holeček M. Histidine in Health and Disease: Metabolism, Physiological Importance, and Use as a Supplement. *Nutrients*. 22 marzo 2020;12(3):848.
260. Boldyrev AA, Aldini G, Derave W. Physiology and Pathophysiology of Carnosine. *Physiol Rev*. ottobre 2013;93(4):1803–45.
261. Rashid CS, Bansal A, Simmons RA. Oxidative Stress, Intrauterine Growth Restriction, and Developmental Programming of Type 2 Diabetes. *Physiology*. 1 settembre 2018;33(5):348–59.
262. Johnston RC, Faulkner M, Carpenter PM, Nael A, Haydel D, Sandman CA, et al. Associations Between Placental Corticotropin–Releasing Hormone, Maternal Cortisol, and Birth Outcomes, Based on Placental Histopathology. *Reprod Sci*. settembre 2020;27(9):1803–11.
263. Nixon M, Upreti R, Andrew R. 5 α -Reduced glucocorticoids: a story of natural selection. *J Endocrinol*. febbraio 2012;212(2):111–27.
264. Hennebert O, Chalbot S, Alran S, Morfin R. Dehydroepiandrosterone 7 α -hydroxylation in human tissues: Possible interference with type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-mediated processes. *J Steroid Biochem Mol Biol*. maggio 2007;104(3–5):326–33.
265. Allvin K, Ankarberg-Lindgren C, Niklasson A, Jacobsson B, Dahlgren J. Altered umbilical sex steroids in preterm infants born small for gestational age. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 16 dicembre 2020;33(24):4164–70.