



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Pediatria

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN
Medicina dello Sviluppo e Scienze della Programmazione
INDIRIZZO: Genetica biochimica e molecolare
CICLO: XXII

TITOLO TESI
IMPATTO DELLA CORIONAMNIONITE SULLO SVILUPPO
DELLE FUNZIONI NEUROPSICOLOGICHE NEL NATO PRETERMINE

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

Coordinatore d'indirizzo: Dr. Maurizio Scarpa

Supervisore: Dr.ssa Agnese Suppiej

Dottorando: Malida Franzoi

*...a chi mi ha
incoraggiato a portare a
termine quest'avventura....*

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Pediatria
Scuola di Dottorato di Ricerca in
Medicina dello Sviluppo e Scienze della Programmazione
Indirizzo di Genetica biochimica e molecolare – Ciclo XXII

**“IMPATTO DELLA CORIONAMNIONITE SULLO SVILUPPO
DELLE FUNZIONI NEUROPSICOLOGICHE NEL NATO PRETERMINE”**

Dottorando: Malida Franzoi - **Supervisore:** Dr.ssa Agnese Suppiej

PREMESSE: crescente è l'interesse verso l'ampia variabilità di disordini dello sviluppo motorio, cognitivo e affettivo-comportamentale a cui la popolazione dei nati pretermine può andare incontro, pur in assenza di disabilità maggiori (paralisi cerebrale, deficit neurosensoriali, epilessia e ritardi cognitivi medio-gravi); lo spettro di disabilità minori ha un consistente impatto sul piano sanitario e socio-economico. Contrastanti sono ad oggi i dati in merito alla correlazione tra patologie della gravidanza, tra cui prevalgono corioamnionite e preeclampsia, che inducono il parto pretermine e condizionano l'outcome a lungo termine, anche in relazione alla difficoltà di adesione a programmi di follow-up a lunga distanza dalla dimissione. Caratterizzare le disabilità a lungo termine nel nato prematuro da gravidanza complicata da CA, associato all'identificazione di markers diagnostici e prognostici precoci di danno cerebrale, è il presupposto per l'individuazione di strategie preventive e terapeutiche.

SCOPO: individuare eventuali correlazioni tra la presenza di corionamnionite (CA) e lo sviluppo di disordini neuropsicologici in età prescolare in una popolazione di nati pretermine (<32 SG) con diagnosi istologica di CA, e confrontare i dati ottenuti con un gruppo di controllo di pari età gestazionale.

MATERIALI E METODO: studio longitudinale su una popolazione di nati pretermine (età gestazionale <32 settimane), nati presso la Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Padova, nel periodo gennaio 1998 – dicembre 2003, di cui era disponibile l'esame istologico della placenta. Al raggiungimento dell'età prescolare è stata condotta una valutazione clinica multidisciplinare neuromotoria, cognitiva e neuropsicologica.

RISULTATI: dei 180 bambini eleggibili, 16 (9%) sono deceduti nella prima settimana di vita, 52 (29%) hanno rifiutato di partecipare, 55 (30%) non erano più rintracciabili. Sono stati esclusi 20 bambini (11%) poiché presentavano esiti maggiori (PCI e/o ritardo cognitivo); sono quindi entrati a far parte dello studio 37 bambini (21%), di cui 13 con istologia placentare positiva per CA (CA 35%). Tra tutti i soggetti esaminati la valutazione neuromotoria rileva difficoltà a carico della coordinazione motoria (DCM) in 12 su 37 soggetti (32.4%). La valutazione neuropsicologica ha posto in evidenza che le prestazioni inerenti funzioni esecutive (fluenza categoriale), memoria verbale ed attenzione risultano collocarsi almeno in un terzo dei casi (> 35%) al di sotto di -1 deviazione standard dalla media. E' stata esplorata l'eventuale relazione tra DCM e funzioni neuropsicologiche: si è evidenziata una significativa associazione tra DCM e abilità visuo-spaziali ($p < 0.0005$), funzioni esecutive ($p < 0.005$), memoria ($p < 0.05$) e attenzione selettiva visiva ($p < 0.01$). Il confronto tra i due gruppi CA/non CA ha evidenziato che il gruppo CA si caratterizza per età gestazionale inferiore ($(27.1 \pm 2.5$ sett nei CA vs 29.2 ± 1.9 non CA; $p < 0.05$) e modalità di parto vaginale (38,5% CA vs 8.3% non CA; $p < 0.05$). Le cause prevalenti di parto spontaneo o indotto risultano la

PROM nel gruppo CA (61.5% CA vs 21,7% non CA; $p < 0.05$) e la preeclampsia nel gruppo non CA (43,5% non CA vs 15,4% CA; $p = 0.064$). La valutazione neuromotoria non rileva significative differenze tra i due gruppi (23.1% CA vs 37.5% non CA; $p = 0.47$). Allo stesso modo non si rilevano differenze statisticamente significative a carico della valutazione neuropsicologica. Vista la prevalenza nel gruppo non CA di preeclampsia, ulteriore noto fattore di rischio neuroevolutivo, si è suddiviso il campione di soggetti in esame in tre gruppi (gruppo A: no CA, no preeclampsia; gruppo B: CA; gruppo C: preeclampsia) e si è valutata l'eventuale correlazione con DCM e con i risultati ai tests neuropsicologici. E' emersa una prevalenza, non significativa, di DCM nel gruppo con preeclampsia (27.3% CA, 18.2% non CA – non preeclampsia, 54.5% preeclampsia; $p = 0.13$), significatività riscontrata dal confronto tra Gruppo C (preeclampsia) verso Gruppo A + B (non preeclampsia) ($p < 0.05$). Per quanto riguarda i tests neuropsicologici l'analisi della varianza tra i gruppi non ha mostrato effetti significativi.

CONCLUSIONI: lo studio condotto risulta di rilevanza nella ricerca internazionale per essere uno dei primi ad aver esteso all'età prescolare l'outcome di nati pretermine con diagnosi istologica di corioamnionite. I dati ottenuti confermano un aumentato rischio di disturbi neuropsicologici nel nato pretermine, suggerendo l'opportunità di investigare in età scolare le funzioni neuropsicologiche soprattutto in presenza di quadri di disturbo della coordinazione motoria (DCM). Dall'analisi dei risultati la corioamnionite non risulta essere un fattore specifico di rischio cognitivo e neuropsicologico di per sé nel pretermine, mentre la preeclampsia si conferma come patologia della gravidanza a potenziale rischio neuroevolutivo.

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Pediatria
Scuola di Dottorato di Ricerca in
Medicina dello Sviluppo e Scienze della Programmazione
Indirizzo di Genetica biochimica e molecolare – Ciclo XXII

**" IMPACT OF CHORIOAMNIONITIS ON THE DEVELOPMENT
OF NEUROPSYCHOLOGICAL FUNCTIONS IN PRETERM INFANTS"**

Student: Malida Franzoi - **Supervisor:** Dr. Agnes Suppiej

BACKGROUND: is growing interest in the wide variability of motor development, cognitive and affective- behavioral disorders to which the population of preterm may suffer, even in the absence of major disabilities (i.e. cerebral palsy, neurosensory deficits, epilepsy and medium-severe mental retardation); the spectrum of minor disability has a substantial impact on child health and socio-economic policy. To date are conflicting data about the correlation between diseases of pregnancy, including in most part chorioamnionitis and pre-eclampsia, which induce preterm birth and influence long-term outcome also in relation to the difficulty of adhering to programs of follow-up at long distance from the discharge. Characterizing the long-term disability in premature from pregnancies complicated by CA and identification of associated markers for early diagnosis and prognosis of brain damage, are prerequisites for the identification of preventive and therapeutic strategies.

PURPOSE: identify possible correlations between the presence of chorioamnionitis (CA) and the development of neuropsychological disorders in a preschool population born preterm (<32 SG) with histological diagnosis of CA, and compare the data obtained with a control group of the same gestational age.

MATERIALS AND METHODS: longitudinal study of a population of preterm infants (gestational age <32 weeks), born at the Obstetrics and Gynecological Clinic of University of Padua in the period January 1998 - December 2003 , which was available for histological examination of the placenta. On reaching the pre-school age was conducted a clinical multidisciplinary neuromotor , cognitive and neuropsychological valuation.

RESULTS: Of 180 eligible children, 16 (9 %) died during the first week of life, 52 (29 %) refused to participate , 55 (30 %) were no longer traceable. Twenty children were excluded (11 %) because they showed cerebral palsy and/or mental retardation; 37 children (21 %) entered the study, including 13 with positive placental histology for CA (CA 35%). Of all the examined subjects neuromotor evaluation finds developmental coordination disorder (DCD) in 12 of 37 subjects (32.4 %). The neuropsychological assessment revealed that the performance related executive functions (categorical fluence), verbal memory and attention are placing at least one third of cases (>35%) below -1 standard deviation from the mean. It has been explored the possible relationship between DCD and neuropsychological functions : it was a significant association between DCD and visual-spatial skills ($p < 0.0005$), executive functions ($p < 0.005$), memory ($p < 0.05$) and visual selective attention ($p < 0.01$). The comparison between the two groups (CA /non CA) showed that the CA group is characterized by lower gestational age (27.1 + 2.5 wks in CA vs. 29.2+1.9 nonCA, $p < 0.05$) and spontaneous delivery (38.5% CA vs 8.3% nonCA, $p < 0.05$). The main causes of spontaneous or induced labor are premature rupture of membranes in the CA group (61.5% CA vs 21.7% non- CA , $p < 0.05$) and preeclampsia in the non CA group (43,5%

non CA vs 15,4% CA; $p=0.064$). Neuromotor assessment does not detect significant differences between the two groups (DCD in 23.1% CA vs 37.5 % non-CA, $p = 0.47$). Similarly not detect statistically significant differences against the neuropsychological assessment. Given the prevalence in CA group of preeclampsia, another known risk factor for neurodevelopmental disorder, we divided the whole sample of subjects in three groups (group A: no CA , no preeclampsia; group B: CA; group C: preeclampsia) and assessed the possible correlation with DCD and the results to neuropsychological assessment. It is showed a not significantly DCD prevalence in preeclampsia group (27.3 % CA, 18.2% no CA-no preeclampsia, 54.5%preeclampsia; $p=0.13$),while statistical significance was found from the comparison between Group C (preeclampsia) to Group A + B (not preeclampsia - $p<0.05$). Regarding neuropsychological tests analysis of variance between groups showed no significant effects.

CONCLUSIONS : The study is of importance in international research to be one of the first to extend to the pre-school age outcome of preterm with a histological diagnosis of chorioamnionitis. These data confirm an increased risk of neuropsychological disorders in preterm infants, suggesting the opportunity to investigate the neuropsychological functions at school age especially in the presence of DCD. Chorioamnionitis not appear to be a specific risk factors for cognitive and neuropsychological outcome itself in preterm, while preeclampsia disease is confirmed as a potential risk of neurodevelopmental disorder.

INDICE

1. Introduzione	pag. 11
2. Prematurità e danno neurologico: implicazioni sullo sviluppo del bambino	pag. 14
2.1 Il danno neurologico	pag. 14
2.2 Il danno neurologico: quali esiti?	pag. 16
3. Corionamnionite e prematurità	pag. 22
4. Scopo dello studio	pag. 27
5. Materiali e metodi	pag. 27
5.1 Valutazione neuromotoria	pag. 27
5.2 Valutazione cognitiva e neuropsicologica	pag. 28
5.3 Analisi statistica	pag. 29
6. Risultati	pag. 30
7. Discussione	pag. 32
8. Tabelle e grafici	pag. 38
9. Bibliografia	pag. 47

1. INTRODUZIONE

I nati pretermine costituiscono circa il 10-12% delle nascite dei Paesi industrializzati, popolazione che si caratterizza come ad alto rischio di danno neurologico con possibile evoluzione in disabilità permanenti di grado variabile (Martin JA, 2003; Vohr BR, 2005; Fanaroff AA, 2007; Hamilton BE, 2007). I continui progressi nel campo della terapia intensiva neonatale hanno portato nell'ultima decade ad un aumento della sopravvivenza ed una sensibile riduzione delle disabilità maggiori (Woodward LJ, 2006; Horbar JD, 2002; Aylward GP, 2002; Platt MJ, 2007). Tuttavia l'estensione a lungo termine dei follow-up sta mettendo in progressiva evidenza come esista un'ampia variabilità di disordini dello sviluppo motorio, cognitivo e affettivo-comportamentale a cui questa popolazione di bambini può andare incontro anche in assenza di disabilità maggiori (paralisi cerebrale, deficit neurosensoriali, epilessia e ritardi cognitivi medio-gravi). I "deficit minori" (o "*Minor Dysfunctions*", "*Minor Impairment*") si rendono clinicamente evidenti nelle età successive con ricadute sugli apprendimenti scolastici e sulle competenze sociali, e restano, a tutt'oggi, ancora sotto diagnosticati (Taylor HG, 2000; Bhutta AT, 2002; Alyward GP, 2003; Hack M, 2005a). Oltre al possibile riscontro di un deficit cognitivo globale, è ormai confermato che i bambini prematuri presentino un maggior rischio di sviluppare disturbi neuropsicologici specifici prevalentemente a carico delle abilità visuomotorie, delle abilità visuo-spaziali, delle funzioni esecutive e della memoria. Tali alterazioni possono essere alla base di disturbi specifici dell'apprendimento (lettura, scrittura e calcolo) che risultano da 3 a 5 volte superiori nella popolazione scolastica dei nati pretermine rispetto ai nati a termine (Litt J, 2005). Lo spettro di disabilità minori ha un crescente impatto sul piano sanitario e socio-economico con necessità di sostegno scolastico che per i bambini *very low birth*

weight (VLBW, <1500 gr) ed *extremely low birth weight* (ELBW, < 1000 gr) arriva al 60 e 70% dei casi, rispettivamente.

La corionamnionite (CA), patologia infettivo-infiammatoria dell'unità feto-placentare, è una causa emergente di parto pretermine (fino all'80% dei casi) (Kent A, 2005).

Circa un terzo delle cause di nascita pretermine è sostenuta da travaglio inarrestabile e/o dalla rottura prematura delle membrane (PROM), condizione frequentemente sostenuta (fino al 40-80% dei casi) da corionamnionite (CA). La CA, patologia infettivo-infiammatoria dell'unità feto-placentare, può diffondersi al feto, condizione conosciuta come "*fetal inflammatory response syndrome*" (FIRS); essa è caratterizzata dalla presenza di funisite (processo vasculitico dei vasi ombelicali) e riscontro di elevati livelli di IL-6 e batteriemia nel sangue fetale (Gomez R, 1998; Yoon BH, 2000). Data la scarsa specificità e sensibilità di sintomi e segni clinici, la diagnosi di certezza di CA è possibile solo secondo criteri microbiologici, istologici e biochimici (Redline RW, 2005). E' crescente l'interesse scientifico nella ricerca di marcatori bioumorali utili a diagnosticare precocemente un coinvolgimento diretto fetale/neonatale nel processo infiammatorio. Accanto a studi della letteratura che confermano aumentati livelli nel sangue e liquido amniotico di interleuchine (IL-1, IL-6, IL-8), il nostro gruppo di ricerca sta approfondendo sia il ruolo diagnostico di nuovi marcatori quali gli isoprostani (individuati come marcatori sensibili di stress ossidativo anche nel sangue di cordone) sia rilevando prime evidenze in merito alla correlazione tra leucocitosi neonatale e CA istologica (Greco A, 2007; Zanardo, 2008).

E' oggi noto che la CA è tra le cause maggiori di morbidità neonatale e di danno cerebrale irreversibile, mediato dal rilascio di citochine infiammatorie, che include la leucomalacia periventricolare (PVL) e l'emorragia intraventricolare (IVH) ma la relazione tra CA ed alterazioni del Sistema Nervoso Centrale (SNC) nel nato pretermine non è stata ancora sistematicamente confermata (Zanardo V, 2008; Vergani P, 2000). Mentre sono ormai confermati i possibili danni multiorgano precoci del neonato connessi alla CA (PVL, IVH, retinopatia del

premature (ROP, bronchopulmonary dysplasia -BPD), and it remains to be evaluated whether correlations with patterns of "minor impairment" detectable on the motor, cognitive and behavioral level through follow-up in the long term.

Characterizing long-term disabilities in the preterm infant born to a complicated pregnancy (CA), associated with the identification of diagnostic and prognostic markers of early brain injury, is the prerequisite for the identification of preventive and therapeutic strategies based on neuroprotection.

2. PREMATURITA' E DANNO NEUROLOGICO: IMPLICAZIONI SULLO SVILUPPO DEL BAMBINO

Negli ultimi decenni, i miglioramenti delle tecniche diagnostiche e terapeutiche in ambito ostetrico, accanto agli sviluppi scientifici e tecnologici in ambito neonatologico, hanno da un lato abbassato il limite accettabile di durata della gravidanza, dall'altro incrementato la sopravvivenza dei nati pretermine (fino al 90%).

Secondo dati recenti della Letteratura, i nati pretermine costituiscono circa il 10-12% delle nascite nei Paesi industrializzati e, nel mondo, più del 2% delle nascite avvengono prima delle 32 SG, con una sopravvivenza che ormai supera l'85%. (Martin JA, 2002; Woodward LJ, 2006; Horbar, 2002)

Nonostante gli sforzi per migliorare non solo la sopravvivenza, ma anche la qualità di vita dei prematuri, tale popolazione si caratterizza tutt'ora per un alto rischio di danno neurologico con possibile evoluzione in disabilità permanenti di grado variabile.

Il rischio di complicanze e la loro gravità è inversamente proporzionale al peso alla nascita: bambini di basso peso alla nascita ("low birth weight" o LBW, <2500gr) presentano un'incidenza di handicap severo nel 6-8% dei casi, quelli con peso molto basso ("very low birth weight" o VLBW, <1500gr) nel 14-17%, mentre quelli con peso estremamente basso alla nascita ("extremely low birth weight" o ELBW, <1000gr) nel 20-25%. (Alyward GP, 2002)

2.1 IL DANNO NEUROLOGICO

Il danno neurologico nel nato pretermine è principalmente connesso ad alterazione della sostanza bianca sottocorticale, ma sono di possibile riscontro anche alterazioni a carico della sostanza grigia corticale, nuclei della base, cervelletto e tronco cerebrale.

Tali alterazioni non sono da ritenersi l'effetto di singoli determinanti, quanto il risultato di complessi processi che derivano dall'attivazione di due principali percorsi eziopatogenetici, quello ischemico e quello infiammatorio (Arpino, 2005).

Fino a qualche anno fa si riteneva che il danno alla sostanza bianca cerebrale ("white matter damage" o WMD) nel nato pretermine fosse dovuto essenzialmente alla vulnerabilità del SNC connessa alla prematurità stessa e che, quindi, il danno fosse conseguenza della nascita pretermine (Volpe JJ, 1995). Attualmente, si sta facendo sempre più strada l'ipotesi che un fattore "X" in grado di indurre la nascita pretermine, sia lo stesso responsabile, già prima della nascita, di indurre un iniziale danno alla sostanza bianca cerebrale (vedi Figura 1). Tra questi fattori, è sempre più sostenuta l'ipotesi che la CA sia tra i maggiori responsabili sia della nascita pretermine, che del danno cerebrale (Damman O, 2004).

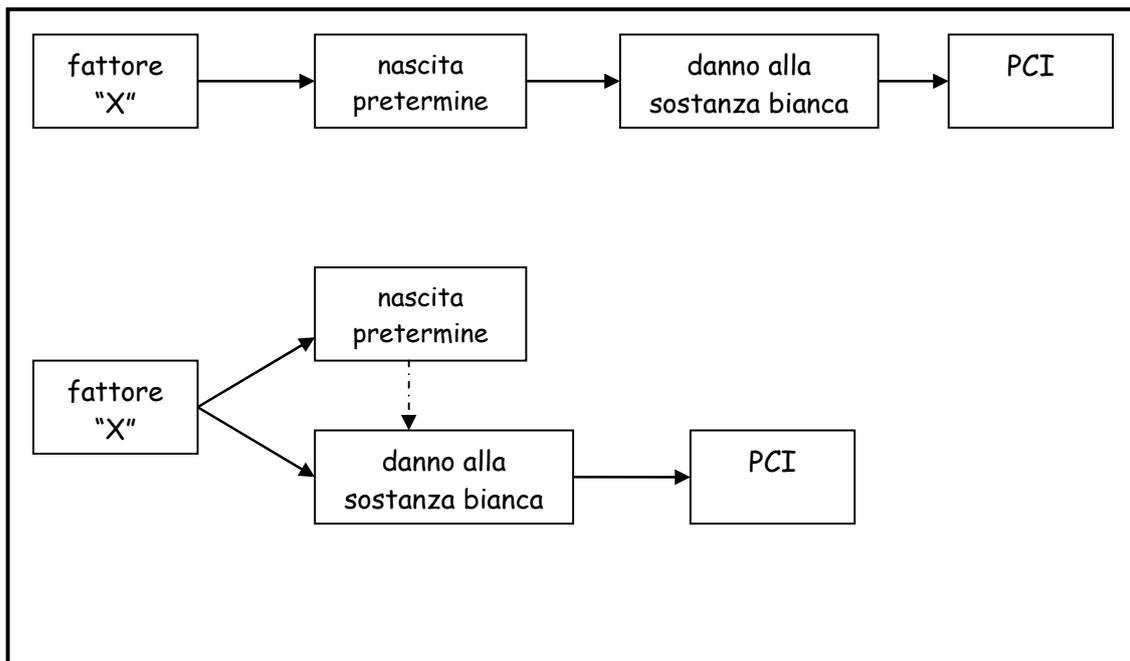


Figura 1. Catena eziopatogenetica del danno alla sostanza bianca cerebrale e conseguente sviluppo di PCI secondo la visione classica (schema superiore) e secondo le recenti ipotesi eziopatogenetiche (schema inferiore) - (tratto da Damman O, et al, 2004).

Le alterazioni anatomiche maggiormente diagnosticate, in quanto precocemente riconoscibili attraverso metodiche non invasive, quale l'ecografia transfontanellare, sono la leucomalacia periventricolare (PVL) e l'emorragia intraventricolare (IVH) di vario grado (Deguchi K, 1997; Kuban K, 1999; Roelants-van Rjin AM, 2001; De Vries LS, 2004).

La sede cerebrale principalmente colpita è la matrice germinale da cui originano, tra la 10a e la 20a SG precursori neuronali e, successivamente, precursori gliali che non hanno ancora completato la fase di migrazione nel passaggio al terzo trimestre di gravidanza, e quindi al momento della nascita pretermine. Il danno a tali precursori cellulari comporta un'alterazione della sostanza bianca (per assenza di oligodendrociti) ed un ridotto sviluppo della sostanza grigia (per assenza di astrociti). Per tali motivi, anche IVH di grado medio-lieve, seppur in assenza di dilatazione ventricolare, possono associarsi ad un danno cerebrale diffuso, soprattutto se sviluppatosi in epoche precoci (Evrard P, 1992; Gressens P, 1992; Patra K, 2006). Allo stesso modo, il riscontro ecografico di PVL non è solo da intendere come danno focale della sostanza bianca, ma come probabile indicatore dell'esistenza di un danno più diffuso. (Dammann O, 2006; Holling EE, 1999)

Mediante l'uso più esteso della risonanza magnetica (RMN) cerebrale si è potuto osservare che la maggior parte dei nati pretermine (<32 SG) hanno alterazioni della sostanza bianca (che comprendono alterazione di segnale, perdita di volume, alterazioni cistiche, dilatazione ventricolare, assottigliamento del corpo calloso e ritardo di mielinizzazione) e/o della sostanza grigia (ridotto volume corticale, disordini di girazione corticale) (Woodward LJ, 2006).

2.2 IL DANNO NEUROLOGICO: QUALI ESITI?

L'incidenza di paralisi cerebrale infantile (PCI) è di 6 su 100 nei nati al di sotto delle 32 settimane gestazionali (SG), ben superiore al tasso dei nati a termine nei quali è pari a 2 su 1000 (Hagberg, 2001). I bambini prematuri rappresentano il

40% dei bambini con PCI ed il 70% dei diplegici. Alla compromissione motoria si può associare ritardo mentale, con percentuali che variano dal 44% dei casi di diplegia all'88% dei casi di tetraplegia (Hagberg, 2001; Picciolini O, 1998).

Anche i deficit neurosensoriali sono più frequentemente riportati nella popolazione dei pretermine: nei prematuri VLBW viene riportata un'incidenza del 9% di deficit visivi e dell'11% di deficit uditivi (Vohr BR, 2000).

Il deficit visivo del bambino prematuro comprende varie problematiche, tra cui riduzione dell'acuità visiva, difetti del campo visivo, disturbi visuo-percettivi e alterazioni della maturazione visiva corticale. Tali deficit sono conseguenze correlate sia allo sviluppo di retinopatia della prematurità (ROP), sia alla presenza di lesioni cerebrali quali la PVL, che può alterare lo sviluppo e funzione delle radiazioni ottiche e comportare alterazioni del fundus oculare (Jacobson LK, 2000; Hellstrom A, 2000).

Il rischio di sordità neurosensoriale è stimato, nella popolazione dei nati pretermine, pari al 2-4% dei nati vivi, contro 1-3/1000 nati vivi dei nati a termine. I prematuri VLBW rappresentano il gruppo più a rischio, in quanto maggiormente esposto a quelli che il Joint Committee on Infant Hearing (2000) ha riconosciuto come i 10 fattori di rischio neonatale per la sordità neurosensoriale (vedi Tabella 1) (Erenberg A, 1999; Vohr BR, 2000; 32-34)

-
1. Storia familiare positiva per diagnosi in età infantile di deficit uditivo neurosensoriale congenito
 2. Infezioni congenite appartenenti al gruppo TORCH
 3. Anomalie craniofacciali, comprendenti anomalie strutturali del canale uditivo, naso e gola
 4. Peso alla nascita inferiore ai 1500gr
 5. Iperbilirubinemia richiedente esanguino trasfusione
 6. Somministrazione di farmaci ototossici
 7. Meningiti batteriche
 8. Indice di Apgar tra 0 e 4 al 1° minuto o tra 0 e 6 al 5° minuto
 9. Ventilazione meccanica per 5 o più giorni, ECMO, o ipertensione polmonare persistente
 10. Sindromi congenite che comprendono sordità neurosensoriale o trasmissiva
-

Tabella 1. Fattori di rischio associati a sordità neurosensoriale e/o trasmissiva in epoca neonatale, secondo il Joint Committee on Infant Hearing (1994).

E' ormai riconosciuta la necessità di screening uditivi universali con l'obiettivo di giungere ad una diagnosi precoce, entro il 3° mese di vita, di deficit uditivo ed iniziare il percorso riabilitativo entro il 6° mese. Screening uditivi sono iniziati anche nel nostro Dipartimento, con specifico interesse per la popolazione della Terapia Intensiva Neonatale. (Rizzardi, 2006)

Oltre ai deficit motori e sensoriali che si rendono evidenti già nelle epoche più precoci (e quindi più precocemente diagnosticati e presi in carico), esiste un'ampia variabilità di disordini dello sviluppo motorio, cognitivo e affettivo-comportamentale a cui la popolazione dei bambini prematuri può andare incontro. Il panorama delle disabilità a lungo termine si estende anche ai "deficit minori" (o "Minor Dysfunctions", "Minor Impairment") che si rendono clinicamente evidenti nelle età successive con ricadute sull'apprendimento scolastico e sulle competenze sociali, e che restano a tutt'oggi ancora sotto diagnosticati.

Rientrano nel "minor impairment":

- le sequele neuroevolutive: ritardo cognitivo, difficoltà di apprendimento, disordini del linguaggio, anomalie neuromotorie ("clumsy child", ovvero bambini con deficit di equilibrio e di coordinazione statica e dinamica, alterazioni neurologiche minori), problemi percettivi;

- le sequele neurocomportamentali: sono considerati i disturbi a carico di temperamento, maturità emozionale, competenze sociali, attenzione selettiva (Picciolini O, 1998). In una recente revisione della letteratura, Taylor e collaboratori riportano un'incidenza di "minor impairment" nella popolazione di prematuri VLBW compresa tra il 50% e il 70% dei soggetti privi di deficit maggiori (Taylor HG, 2000).

Per quanto riguarda lo sviluppo del linguaggio nel bambino prematuro, si osserva che alcune funzioni sono in genere conservate, come la comprensione ed il vocabolario, mentre altre più complesse appaiono a rischio, come la comprensione sintattica e le abilità verbali astratte; seppur lievi, tali alterazioni possono avere un impatto negativo sulla socializzazione e il rendimento scolastico (Alyward GP, 2002).

E' riportato in letteratura un quoziente intellettivo (QI) nei bambini prematuri, testato in età scolare, inferiore rispetto a quello dei coetanei nati a termine, pur in assenza di deficit maggiori (Alyward GP, 2002; Bhutta AT, 2002). Dalle revisioni della letteratura si evidenzia che nei bambini VLBW il QI si colloca generalmente nei valori medi inferiori o borderline; tra i 4 e i 6 anni viene segnalata un aumento della discrepanza nell'ambito delle abilità di performance verso i coetanei nati a termine (Alyward GP, 2003; Marlow N, 2005).

Oltre al possibile riscontro di un deficit cognitivo globale, è ormai confermato che i bambini prematuri presentino un maggior rischio di sviluppare specifici disturbi neuropsicologici nell'ambito delle abilità visuo-motorie, visuo-spaziali, funzioni esecutive, memoria. (Taylor HG, 2000; Taylor HG, 2004). Anche i disturbi specifici dell'apprendimento (lettura, scrittura e calcolo) sono maggiormente presenti nella popolazione scolastica dei nati pretermine, con un

tasso da 3 a 5 volte superiore rispetto ai nati a termine, sostenuti da disturbi neuropsicologici quali deficit delle funzioni esecutive e di memoria di lavoro (Litt J, 2005).

La conseguenza più evidente di tali disturbi è la necessità di sostegno scolastico per i bambini VLBW ed ELBW che viene riportato in letteratura pari al 60 e 70 % dei bambini, rispettivamente (Bowen, 2002).

Disordini motori lievi, da quadri di diparesi fino a più sfumati quadri di disturbi della coordinazione motoria si stanno definendo con sempre maggior consistenza associati a deficit neuropsicologici, pur in assenza di disturbi cognitivi maggiori. (Davis, 2007; Marlow, 2007). Studi recenti della letteratura suggeriscono la possibile correlazione tra esiti neuropsicologici e disordini della coordinazione motoria in presenza o assenza di disturbi neurologici minori (Korkman 2008, Marlow 2007).

Per quanto riguarda la sfera emotivo-comportamentale, studi su bambini prematuri con età compresa tra i 5 e gli 11 anni, evidenziano una maggiore incidenza rispetto ai coetanei nati a termine di difficoltà di natura comportamentale e della sfera emozionale, da aspetti di difficoltà di socializzazione e ridotti livelli di autostima, fino a disturbi più specifici come deficit d'attenzione, associato o meno ad iperattività, disturbi d'ansia e depressivi (Bhutta AT, 2002; Botting N, 1997; Breslau N, 1995; Elgen I, 2002; Korman, 2008).

In età adolescenziale, si riscontrano con frequenza più elevata disturbi da deficit d'attenzione ed iperattività (ADHD) e disturbi d'ansia (Breslau N, 1995; Breslau N, 2000).

Gli studi di neurobiologia tentano di delineare la connessione tra lesioni cerebrali, neuroradiologicamente evidenti ed esiti neuropsicologici. Diversi fattori perinatali, variamente associati tra loro, sono stati individuati nei soggetti con esiti neuropsicologici tra cui LPV, IVH di grado III o IV, dilatazione ventricolare, ritardo di crescita in utero, infezioni perinatali e displasia broncopolmonare (Shankaran S, 2004; Sherlock RL, 2005; Taylor HG, 2000; Vohr BR, 2000). Le

correlazioni tra fattori perinatali ed esiti neuropsicologici non sono ancora ben definite. Taylor et al. (2006) evidenziano in nati ELBW deficit delle funzioni esecutive e di memoria correlati ad alterazioni del SNC evidenziabili alle ecografie transfontanellari, trattamento postnatale con steroidi, enterocolite necrotizzante. Diversamente, in uno studio precedente dello stesso gruppo di ricerca, non erano state riscontrate correlazioni tra specifiche alterazioni neuropsicologiche e lesioni cerebrali quali PVL e IVH di grado III – IV in bambini VLBW testati in età adolescenziale (Taylor et al., 2004).

Nonostante la possibile individuazione di danni neurobiologici, non può essere dimenticato come la problematica dei deficit cognitivi ed affettivo-comportamentali viene ad essere ben più ampia e complessa, per il rilevante impatto della nascita pretermine e della malattia sulla relazione precoce madre-bambino, sullo sviluppo psicologico del bambino e sulle dinamiche intrafamiliari. Inoltre, è noto che l'ambiente socio-culturale rappresenta un fattore di rischio di alta gravidanza: a parità di lesione cerebrale, i bambini appartenenti ad ambiente socialmente più depresso corrono globalmente rischi maggiori sia nello sviluppo cognitivo che emozionale (Riva D, 1998).

Il rilievo di disabilità non solo maggiori (PCI, deficit neurosensoriali visivi ed uditivi, ritardi cognitivi medio-gravi, epilessia), ma anche estese alla sfera cognitiva, neuropsicologica ed emozionale, rendono evidente la necessità di programmi di follow-up multidisciplinari, che si prolunghino almeno all'età scolare, al fine di giungere ad una corretta diagnosi e favorire adeguate prese in carico. Non sembra ad oggi più sufficiente affidarsi alla valutazione di sviluppo cognitivo testato ai due anni di età corretta per poter escludere la presenza di quadri di ritardo cognitivo globale o di deficit specifico neuropsicologico (Hack M, 2005b).

3. CORIOAMNIONITE E PREMATURITA'

Il termine corioamnionite (CA) è attualmente utilizzato per definire l'infezione batterica intrauterina che può coinvolgere sia tessuti di origine materno-fetali, come lo spazio coriodecduale e la placenta, sia di origine fetale, come la membrana corio-amniotica, il liquido amniotico e il funicolo. Dalle colture tessutali si riscontra in genere la crescita batterica di specie a bassa virulenza, di frequente colonizzazione dell'ambiente vaginale, quali *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Streptococcus spp.*, che possono essere presenti in utero al concepimento o risalirvi durante la gravidanza (Hagberg H, 2002). Recenti studi hanno messo in evidenza anche una correlazione tra infezioni peridontali materne sostenute da *Fusobacterium nucleatum* ed infezione placentare, trasmessa per via ematogena. Inoltre, il processo infettivo intrauterino può essere trasmesso per via ematogena anche da organi adiacenti come le tube di Falloppio (salpingiti croniche), vescica (cistiti acute), appendice (appendicite), o intestino (*E.Coli* ed altri) (Redline RW, 2006).

L'infezione microbica viene ad essere trigger di attivazione di una risposta infiammatoria da parte di tessuti materni e fetali, che determina l'insorgenza di parto pretermine sia in presenza che assenza di rottura prematura delle membrane (PPROM) (Dammann O, 1997; Goncalves LF, 2002).

Da un punto di vista patogenetico, l'evento del parto è sostenuto dal rilascio di citochine infiammatorie, quali principalmente IL-1, IL-6, e fattore di necrosi tumorale α (TNF- α), che inducono ad un rilascio massivo di prostaglandine da parte delle membrane fetali e dalla decidua uterina (Arpino C, 2005).

La CA può indurre una reazione infettivo-infiammatoria generalizzata nel feto, conosciuta come "fetal inflammatory response syndrome" (FIRS), caratterizzata dalla presenza di funisite (processo vasculitico dei vasi ombelicali) e riscontro di elevati livelli di IL-6 e batteriemia nel sangue fetale (Gomez R, 1998; Yoon BH, 2000).

Alcuni Autori sostengono da tempo la necessità di procedere alla realizzazione di un sistema di stadiazione dell'intensità della CA, con l'ipotesi che quadri di maggiore intensità si correlino a maggior rischio di morbilità fetale.

Da alcuni anni, anche il nostro gruppo di ricerca ha definito un sistema di staging e grading dell'infiammazione riscontrata nei reperti istopatologici placentari di parti pretermine (Zanardo V, 2006).

Attualmente, la letteratura internazionale si riferisce alla stadiazione dell'intensità della reazione infiammatoria secondo Redline (Redline RW, 2003), che vede una suddivisione in 3 stadi, in base al riscontro di granulociti neutrofili in diversi distretti:

stadio 1: presenza di neutrofili al di sotto delle membrane corioniche ("acute subchorionitis");

stadio 2: estensione dell'infiltrato infiammatorio alle membrane corioniche, senza e con coinvolgimento dell'amnion ("acute chorionitis" e "acute chorioamnionitis");

stadio 3: intensificazione del processo infiammatorio, con necrosi dell'epitelio dell'amnios ("necrotising chorioamnionitis")

Secondo le attuali conoscenze scientifiche, la CA non può quindi più essere definita solo secondo criteri clinici, ma necessariamente deve essere diagnosticata secondo criteri microbiologici, istologici e biochimici (Hagberg H, 2002).

Infatti, la CA rimane di frequente una condizione subclinica, diagnosticata con l'esame istopatologico della placenta e degli annessi dopo la nascita. L'esame istologico è in grado di stabilire l'origine materna o fetale della reazione infiammatoria e di stadiarne la severità nelle diverse localizzazioni. La presenza di microrganismi patogeni può essere identificata attraverso l'allestimento di colture o mediante tecniche di biologia molecolare quali la reazione di polimerasi a catena (PCR) (Redline RW, 2006; Naeye RL, 1983).

Solo raramente la CA si manifesta clinicamente (CCA), con la presenza di uno o più sintomi quali febbre materna, tachicardia fetale o materna, dolore o tensione addominale, secrezioni vaginali e/o liquido amniotico maleodorante, leucocitosi e aumento della proteina C materna. Data la scarsa specificità e sensibilità dei sintomi e segni clinici, la diagnosi di certezza di CA resta comunque possibile dunque solo attraverso l'esame istologico della placenta (Yoon BH, 2000).

Attualmente la CA è considerata una delle principali cause di parto pretermine al di sotto delle 30 SG: quadri di CA acuta si riscontrano all'esame istopatologico nel 50-70% dei prematuri di peso molto basso alla nascita (ELBW, <1000 gr), mentre è riscontrabile in circa il 10-15% dei nati a termine (Yoon BH, 2000).

In particolare, si ritiene che la CA sia frequentemente responsabile della PPRM (26-50% dei casi), e che questa rappresenti circa un terzo delle cause di nascita pretermine (Moore M, 2006; Romero R, 2007).

Le recenti evidenze scientifiche inerenti il ruolo della CA sulla nascita pretermine hanno indotto un crescente interesse sullo studio della relazione tra CA e morbilità, sia a breve che a lungo termine.

Vi sono crescenti evidenze che il processo infettivo-infiammatorio che coinvolge tessuti materni e fetali venga ad "inquinare" l'ambiente di crescita fetale determinando un rischio aggiuntivo alla nascita pretermine di per sé stessa.

E' stato dimostrato che la CA si associa ad aumentato rischio di morte e morbilità neonatale, ritardo di crescita intrauterina (IUGR) e, secondo diversi autori, a compromissione neurologica, displasia broncopolmonare (BPD), e involuzione timica, mentre è ancora incerta la correlazione con deficit visivi e cognitivi (vedi Figura 2) (Wu YW, 2003; Hagberg H, 2002; Wu YW, 2002; Redline RW, 2004).

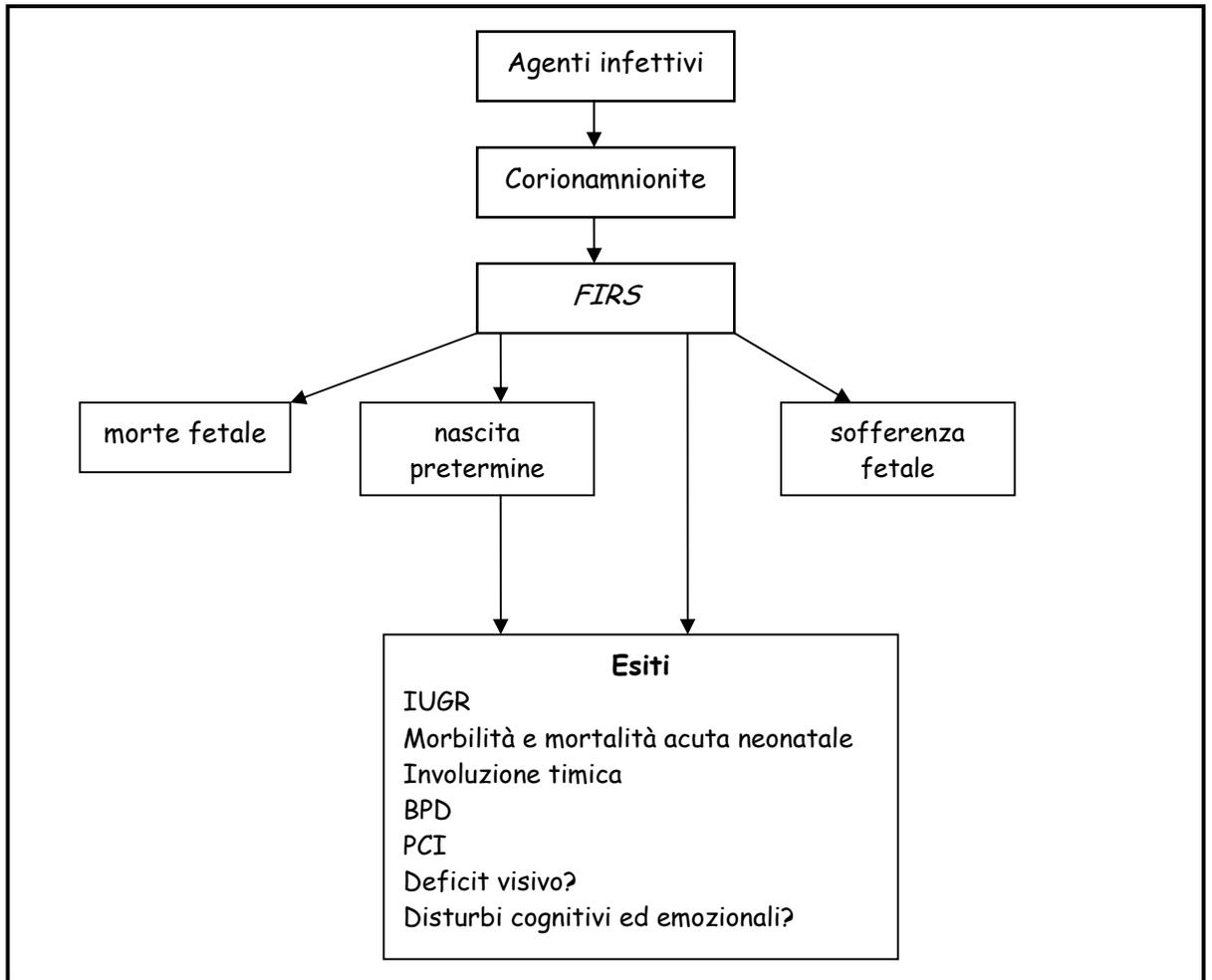


Figura 2. Esiti connessi alla corionamnionite (tratto da Hagberg H, et al., 2002).

Ad oggi, non è ancora del tutto conosciuto il ruolo della CA nello sviluppo delle possibili alterazioni del Sistema Nervoso Centrale (SNC) (Dammann O, 2004; Redline RW, 1998; Redline RW, 2005). E' noto, comunque, che i mediatori dell'infiammazione rilasciati in circolo a seguito della *FIRS* possono indurre danno direttamente, ridurre le difese o alterare la differenziazione cellulare nel SNC fetale (Gomez R, 1998; Leviton A, 1999).

E' stato ipotizzato che l'attivazione endoteliale ed il danno alla muscolatura liscia vascolare, che inducono la trombosi nei vasi fetali corionici, siano meccanismi indotti anche di trombosi in altri distretti fetali, come il SNC (Redline RW, 2006; Redline RW, 2007).

Ad oggi i dati presenti in letteratura appaiono contrastanti in merito al ruolo diretto della CA sugli esiti a breve termine nel nato pretermine. Accanto a studi che indicano la CA come fattore di rischio per PCI nel nato "near term" (> 36SG) vi sono primi lavori che indicano l'assenza di correlazione diretta tra CA ed esiti a breve termine, suggerendo la prematurità indotta dalla CA il primo fattore di rischio: età gestazionale e peso alla nascita sono i fattori che risultano in maniera significativa inversamente proporzionali al rischio di morbidità perinatale. (Wu YW, 2003; Andrews WW, 2008). Diversamente, un recente studio prospettico condotto dal nostro gruppo di ricerca ha evidenziato una correlazione tra lo stadio della CA e lo sviluppo di IVH nel prematuro, attribuendo un ruolo determinante alla reazione infiammatoria fetale nella patogenesi della lesione cerebrale (Zanardo V, 2008).

Accanto a questi dati ancora contrastanti emerge il sospetto che gli stessi meccanismi infettivo/infiammatori possano incidere sullo sviluppo neuroevolutivo e neurocomportamentale determinando lesioni minori associate a deficit cognitivo e disabilità minori a lungo termine (Redline RW, 2007; Zanardo V, 2008).

Vi sono evidenze, seppur ancora piuttosto limitate, che la CA clinica si associ, in età prescolare e scolare, ad un QI inferiore e maggior rischio di disordini visuo-spaziali e visuo-motori rispetto ai soggetti prematuri di controllo, pur in assenza di PCI (Versland LB, 2006; Sommerfelt K, 1998; Dammann O, 2003).

Redline RW et al. (2007) hanno rilevato in bambini ELBW una correlazione tra CA complicata da funisite e disordini visuo-spaziali e delle funzioni esecutive, dato che risultava in linea con risultati preliminari del nostro gruppo di ricerca (Zanardo V, 2008).

Andrews WW et al. (2008) riportano la mancanza di correlazione tra CA e deficit cognitivo testato in età scolare, rilevando invece significativa l'associazione tra PPRM e quoziente intellettivo (QI) < 70.

4. SCOPO DELLO STUDIO

Scopo dello studio è stato quello di individuare eventuali correlazioni tra la presenza di corionamnionite (CA) e lo sviluppo di disordini neuropsicologici in età prescolare in una popolazione di nati pretermine (<32 SG) con diagnosi istologica di CA, e confrontare i dati ottenuti con un gruppo di controllo di pari età gestazionale.

5. MATERIALI E METODI

E' stato condotto uno studio longitudinale su una popolazione di 180 bambini prematuri (con età gestazionale < 32 settimane), nati presso la Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università di Padova, nel periodo gennaio 1998 – dicembre 2003, di cui era disponibile l'esame istologico della placenta.

Per ogni soggetto, sono stati raccolti i dati relativi alla gravidanza e rivista e classificata secondo stadiazione di Redline l'istologia placentare (Redline RW, 2003); sono stati quindi raccolti i parametri alla nascita e l'evoluzione clinica neonatale.

Al raggiungimento dell'età prescolare (dai 5 anni e 6 mesi) le famiglie sono state contattate telefonicamente, previo invio di lettera informativa sul progetto; è stata proposta per il bambino una valutazione clinica multidisciplinare neuromotoria, cognitiva e neuropsicologica.

Sono stati considerati criteri di esclusione quadri di paralisi cerebrale infantile, quoziente intellettivo < 70, sindromi genetiche o malformative.

5.1 Valutazione neuromotoria.

L'esame neuromotorio è stato condotto secondo il Townen test modificato (Hadders-Algra M, 2002; Townen BCL, 1979; Mikkola K, 2005).

La valutazione ha esplorato le seguenti aree:

1. mantenimento della postura (in stazione eretta, da seduto o nel cammino);
2. riflessi osteotendinei (patellari, achillei, plantare);
3. movimenti involontari (movimenti coreiformi o atetoidi; tremore a riposo);
4. coordinazione motoria (prova indice-naso, diadococinesi, prova tallone-ginocchio, prova di toccare la punta del dito, cammino sulla linea, stazione eretta e saltello su un piede);
5. motricità fine (opposizione delle dita; prassie orali);
6. miscellanea (alterazioni nervi cranici – deficit VI, VII, ...-; eccessive sincinesie; aumentato tono muscolare; altro).

Ad ogni area è stato dato un giudizio di "normalità" o "alterazione".

Il risultato finale della valutazione è stato ricondotto a 3 categorie:

- I. normale (giudizio di normalità nelle aree 2-6);
- II. disturbo della coordinazione motoria con o senza segni neurologici minori (alterazione in 4 e/o 5, associati o meno ad alterazioni in 2, 3, 6);
- III. paralisi cerebrale (secondo Hagberg B, 2001).

5.2 Valutazione cognitiva e neuropsicologica.

Per la valutazione cognitiva sono state utilizzate le Scale Wechsler:

- bambini con età inferiore ai 6 anni: "Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence" o scala WPPSI (Wechsler D, 1991);
- bambini con età maggiore o uguale ai 6 anni: la "Wechsler Intelligence Scale for Children (III)" o WISC-III (Wechsler D, 2008).

Per quanto riguarda la valutazione neuropsicologica, sono state utilizzate prove finalizzate ad esplorare le aree del linguaggio (sub-test Vocabolario e Somiglianze da scala WPPSI o WISC-III), visuo-spaziale (sub-test Disegno con cubi da scala WPPSI o WISC-III), funzioni esecutive (Torre di Londra¹, Prova di fluenza categoriale¹), memoria verbale e non verbale (Digit diretto¹, Digit inverso¹, Corsi¹), attenzione selettiva e sostenuta (Test delle campanelle¹, sub-test Cifrario o Casa degli animali da Scala WPPSI o WISC-III). (¹ Bisiacchi PS, 1997 e 2005)

Sono stati confrontati i punti-t ottenuti alle singole prove; sono stati considerati statisticamente significativi i valori $< -2,0$ SD. Ai risultati ottenuti sono state assegnate 3 categorie in riferimento al potenziale significato clinico del dato ottenuto:

- 1: prestazione nella norma ($t > -1$ SD)
- 2: prestazione lievemente deficitaria (-2 SD $< t \leq -1$ SD)
- 3: prestazione deficitaria ($t \leq -2$ SD)

5.3 Analisi statistica

Le differenze tra i gruppi sono state valutate mediante il test Chi-quadro per le variabili qualitative, il test di Mann-Whitney per le variabili ordinali, il t di Student per variabili a distribuzione normale se i gruppi da confrontare erano due o l'Analisi della Varianza se i gruppi erano più di due. Per valutare l'eventuale effetto dell'età gestazionale e dell'età in cui erano stati eseguiti i tests neuropsicologici sulle performances stesse, è stata utilizzata l'analisi della covarianza. Il test di Kolmogorov Smirnov è stato impiegato per saggiare la normalità delle variabili in esame. Il livello di significatività prefissato è stato $p < 0.05$.

6. RISULTATI

Dei 180 bambini eleggibili, 16 (9%) sono deceduti nella prima settimana di vita, 52 (29%) hanno rifiutato di partecipare, 55 (30%) non erano più rintracciabili. Sono stati esclusi 20 bambini (11%) poiché presentavano esiti maggiori (PCI e/o ritardo cognitivo); sono quindi entrati a far parte dello studio 37 bambini (21%), di cui 13 con istologia placentare positiva per CA (CA 35%).

I dati riguardanti la gravidanza e la perinatalità sono riportati in Tabella 1 e 2.

L'età media alla valutazione neuromotoria, cognitiva e neuropsicologica è di 73 mesi (range 66-82 mesi).

La valutazione neuromotoria rileva difficoltà a carico della coordinazione motoria (DCM) in 12 su 37 soggetti (32.4%).

La valutazione cognitiva ha riscontrato in tutti i soggetti un valore stimato del QI totale nella norma per l'età.

In Tabella 3 vengono riportate le distribuzioni dei punteggi neuropsicologici categorizzati e la relativa significatività. Si osserva che, in media, il 26% dei punteggi eccede la prima deviazione standard (equivalente alla categoria ≥ 1). In particolare, le prestazioni inerenti funzioni esecutive (fluenza categoriale), memoria verbale ed attenzione risultano collocarsi almeno in un terzo dei casi ($> 35\%$) al di sotto di -1 deviazione standard dalla media.

E' stata esplorata l'eventuale relazione tra DCM e funzioni neuropsicologiche: come riportato in Tabella 4, si è evidenziata una significativa associazione tra DCM e abilità visuo-spaziali ($p < 0.0005$), funzioni esecutive ($p < 0.005$), memoria ($p < 0.05$) e attenzione selettiva visiva ($p < 0.01$).

I due gruppi di soggetti in esame (CA/non CA) sono risultati omogenei per quanto riguarda sesso, peso, circonferenza cranica e punteggio di Apgar, l'assunzione di corticosteroidi prima della nascita ed il numero di dosi assunte (Tabella 1).

L'età gestazionale è risultata significativamente inferiore nel gruppo CA (27.1 \pm 2.5 settimane nei CA vs 29.2 \pm 1.9 non CA; $p < 0.05$ – Tabella 1).

Per quanto riguarda la modalità di parto, il parto vaginale è risultato più frequente nel gruppo CA (38,5% CA vs 8.3% non CA; $p < 0.05$ – Tabella 1).

Tra le cause di parto pretermine, la rottura prematura delle membrane (PROM) e la pre-eclampsia risultano le più frequenti nei 2 gruppi: la PROM prevale nel gruppo CA (61.5% CA vs 21,7% non CA; $p < 0.05$), mentre la pre-eclampsia quasi esclusivamente rappresentata nel gruppo non CA, con soli due casi nel gruppo CA (43,5% non CA vs 15,4% CA; $p = 0.064$ – Tabella 1).

Al momento della nascita, è stata necessaria rianimazione mediante intubazione oro-tracheale in 84,6% dei CA e in 50% non CA ($p < 0.05$) (Tabella 1).

I due gruppi risultano omogenei in riferimento all'insorgenza di complicanze neonatali quali RDS, BPD, IVH, mentre la ROP è risultata prevalente nel gruppo CA (53.8% CA vs 20.8% non CA; $p < 0.05$ – Tabella 2). Si è registrato un solo caso di NEC nel gruppo non CA.

La valutazione neuromotoria rileva un quadro di DCM in 3 soggetti nel gruppo CA -23.1%- versus 9 nonCA -37.5%-; senza differenza significativa tra i due gruppi ($p = 0.47$).

I punteggi ottenuti alle prove neuropsicologiche sono riportati in Tabella 5 per i punteggi T che, tranne per il caso MEM-DI, hanno dimostrato una distribuzione normale, ed in Tabella 6 per i punteggi categorizzati e per MEM-DI. Il confronto tra i due gruppi non ha evidenziato differenze statisticamente significative.

Data la prevalenza nel gruppo non CA di gravidanze complicate da preeclampsia, altro fattore di rischio per lo sviluppo neuroevolutivo, si è proceduto all'analisi del possibile effetto di tale condizione. A tale scopo è stato suddiviso il campione di soggetti in esame in tre gruppi (gruppo A: no CA, no preeclampsia; gruppo B: CA; gruppo C: preeclampsia) e valutata l'eventuale correlazione con i risultati ai tests neuropsicologici (Figura 2). L'analisi della varianza tra i gruppi non ha mostrato effetti significativi.

Allo stesso modo è stata valutata la distribuzione del DCM all'interno dei tre gruppi; emerge una prevalenza di DCM nel gruppo con preeclampsia che non raggiunge però una significatività statistica (27.3% CA, 18.2% non CA – non preeclampsia, 54.5% preeclampsia; $p=0.13$) se non dal confronto tra Gruppo C (preeclampsia) verso Gruppo A + B (non preeclampsia) ($p < 0.05$).

7. DISCUSSIONE

Lo studio condotto risulta di rilevanza nella ricerca internazionale per essere uno dei primi ad aver esteso all'età prescolare l'outcome di nati pretermine con diagnosi istologica di corioamnionite.

I dati ottenuti confermano un aumentato rischio di disturbi neuropsicologici nel nato pretermine, suggerendo l'opportunità di investigare in età scolare le funzioni neuropsicologiche soprattutto in presenza di quadri di disturbo della coordinazione motoria (DCM). Dall'analisi dei risultati la corionamnionite non risulta essere un fattore specifico di rischio cognitivo e neuropsicologico di per sé nel pretermine, mentre la preeclampsia si conferma come patologia della gravidanza a potenziale rischio neuroevolutivo.

Considerando l'intero gruppo di bambini valutati si osserva che, in media, il 26% dei punteggi ottenuti alle prove neuropsicologiche si colloca al di sotto di -1 deviazione standard (equivalente alle categorie 2 e 3), con particolare interessamento delle funzioni esecutive (fluenza categoriale), memoria verbale ed attenzione. Le differenze riscontrate rispetto ai valori normativi di riferimento, seppur non raggiungono una significatività statistica, costituiscono un elemento di sospetto clinico per il quale è opportuno un monitoraggio per la possibile evoluzione in disturbi degli apprendimenti scolastici.

Oltre al possibile riscontro di un deficit cognitivo globale, è ormai confermato che i bambini prematuri presentano un maggior rischio di sviluppare specifici disturbi neuropsicologici nell'ambito delle abilità visuo-motorie, visuo-spaziali, funzioni esecutive, memoria (Taylor HG, 2000; Taylor HG, 2004). Anche i disturbi specifici dell'apprendimento (lettura, scrittura e calcolo) sono maggiormente presenti nella popolazione scolastica dei nati pretermine, con un tasso da 3 a 5 volte superiore rispetto ai nati a termine, sostenuti da disturbi neuropsicologici quali deficit delle funzioni esecutive e di memoria di lavoro (Litt J, 2005).

L'analisi dei dati neuropsicologici ottenuti nel nostro studio ha messo in evidenza una significativa relazione tra DCM e minori abilità nell'ambito dell'area visuospatiale, funzioni esecutive, memoria e attenzione selettiva visiva.

Il nato pretermine, pur in assenza di paralisi cerebrale, presenta un aumentato rischio di manifestare un disturbo della coordinazione motoria (DCM). DCM e disturbi neuropsicologici possono coesistere anche in assenza di disturbo cognitivo globale. In uno studio recente Marlow et al. (2007) hanno dimostrato che nati ELBW privi di deficit maggiori presentano un elevato rischio di deficit delle funzioni visuo-spaziali, esecutive e attentive e DCM.

I nostri dati appaiono di notevole rilievo all'interno della crescente necessità di individuare indicatori precoci facilmente valutabili che permettano di selezionare i bambini a maggior rischio neuropsicologico e quindi candidati a più approfondite valutazioni. Caratterizzare i nati pretermine secondo il profilo clinico neuromotorio può permettere di identificare coloro che sono a maggior rischio di deficit neuropsicologico (Korkman M, 2008). Individuare tali difficoltà precocemente può permettere di attivare percorsi abilitativi ed adeguate misure a supporto degli apprendimenti scolastici, riducendo l'impatto psicologico e socio-economico determinato da una situazione di svantaggio nel percorso scolastico.

L'analisi dei risultati della valutazione neuromotoria e neuropsicologica nel nostro campione di studio non rileva differenze significative tra i due gruppi (CA versus nonCA). La corionamnionite non risulta quindi essere un fattore specifico di rischio cognitivo e neuropsicologico di per sé nel pretermine.

Dal confronto delle variabili inerenti la gravidanza ed il parto emerge che i due gruppi posti a confronto (CA / nonCA) differiscono in modo significativo per modalità di parto, causa di parto prematuro ed età gestazionale (vedi Tabella 1).

Per quanto riguarda la modalità di parto, il parto vaginale è risultato più frequente nel gruppo CA ($p < 0.05$). La conferma diagnostica di CA avviene dopo il parto, con l'esame istologico della placenta ed in genere la gravidanza decorre regolarmente fino al momento del parto pretermine; la manifestazione clinica della CA è spesso assente e, quando si manifesta, si presenta una sintomatologia aspecifica febbrile negli ultimi giorni (febbre materna, aumento degli indici di flogosi materni, tachicardia fetale e/o materna). Nonostante il decorso della gravidanza sia quindi in genere regolare, i dati presenti in letteratura, confermano nell'infezione intrauterina e nella risposta infiammatoria materna e fetale conseguente, un elemento di elevato rischio nello sviluppo di complicanze nel nato pretermine: vi sono evidenze sulla correlazione tra CA e sviluppo di PVL ed IVH, con conseguente rischio di PCI, ma anche tra CA e complicanze respiratorie acute, insorgenza di BPD, ROP, NEC (Hagberg H, 2002; Wu YW, 2002). Tuttavia, le stesse revisioni della letteratura confermano la mancanza di univocità nei criteri di inclusione dei casi studiati e ancora limitate sono ad oggi le evidenze provenienti da studi che correlino la diagnosi di certezza istologica di CA con gli esiti a lungo termine (Kent A, 2005; Redline RW, 2006; Dammann O, 2004; Redline RW, 1998; De Felice C, 2001; Zanardo V, 2008; Andrews WW, 2008; Schlapbach LJ, 2010).

In un precedente lavoro il nostro gruppo di ricerca ha documentato che la CA espone il nato prematuro ad un rischio di morbilità e mortalità neonatale grave quanto quello del neonato a rischio per altre complicanze della gravidanza, con una persistenza di rischio per disabilità motorie e cognitive al follow-up a medio e lungo termine (Suppie A, 2009). I risultati di tale studio integravano ed estendevano all'età prescolare precedenti dati della letteratura, relativi alla CA diagnosticata clinicamente. La disponibilità dell'esame istologico placentare ci

aveva permesso di poter investigare una popolazione omogenea con diagnosi di certezza di corioamnionite.

Andrews WW et al. (2008) riportano, in nati da gravidanza decorsa con CA, l'assenza di effetti diretti dell'esposizione in utero a mediatori dell'infiammazione sullo sviluppo cognitivo e neuromotorio testati tra i 5 e gli 8 anni, attribuendo invece un ruolo preminente alla più precoce età gestazionale e alle più frequenti complicanze neonatali (quali PVL, IVH, BPD e NEC) associate all'infiammazione.

I dati della gravidanza nel nostro campione di studio pongono in evidenza come fattori di rischio prevalenti per parto pretermine la rottura prematura delle membrane (PROM) e la preeclampsia: la PROM prevale nel gruppo CA ($p < 0.05$), mentre la preeclampsia risulta più frequente nel gruppo non CA ($p = 0.064$) (vedi Tabella 1).

Preeclampsia (Duley L, 2006) e PROM indotta da CA rappresentano due patologie, raramente coesistenti, che inducono più di frequente al parto pretermine, spontaneo o indotto. Entrambe le condizioni possono danneggiare lo sviluppo cerebrale fetale: la preeclampsia interferisce con l'apporto di sangue placentare, inducendo una ipossia cronica con conseguente ritardo di crescita fetale e possibile danno ischemico cerebrale; la CA espone il cervello fetale immaturo ad alti livelli di citochine, possibili induttori di apoptosi e di alterazione della coagulazione e del microcircolo. E' altresì vero che è i percorsi patogenetici sostenuti da infiammazione ed ipossia si intersecano, rendendo difficile discriminare i fattori determinanti ad innescare o estendere il danno neurobiologico sottostante agli esiti clinicamente evidenti.

Il rischio di complicanze fetali indotte da entrambe le condizioni patologiche apre la necessità di attivare follow-up a lungo termine per rispondere a questioni ancora irrisolte in merito all'opportunità di far proseguire o interrompere prematuramente la gravidanza nel tentativo di ridurre la morbilità neonatale oltre che materna.

Schlapbach LJ et al. (2010) riportano in uno studio condotto su nati pretermine (< 32 SG) la mancanza di correlazione tra CA e preeclampsia sullo

sviluppo cognitivo e neuromotorio ai due anni di età corretta; segnalano, tuttavia, il riscontro di quozienti di sviluppo mentale inferiori nel gruppo preeclampsia, rispetto a CA e controlli, e un ruolo negativo di BPD, scarsa crescita e sepsi neonatale sullo sviluppo cognitivo e motorio.

L'analisi dei dati emersi dalla valutazione neuropsicologica del nostro studio mostra l'assenza di un effetto significativo della CA e della preeclampsia sullo sviluppo delle funzioni neuropsicologiche. Tuttavia i dati ottenuti suggeriscono la preeclampsia maggiormente associata a performance inferiori rispetto agli altri due gruppi (CA; non CA, non preeclampsia) nell'ambito delle abilità visuospatiali, funzioni esecutive e memoria (vedi Figura 2).

Tali risultati pur necessitando di essere approfonditi all'interno di un più ampio campione di soggetti, trovano conferma nello studio istopatologico di Redline RW et al. (2007) che hanno indagato le possibili correlazioni tra differenti lesioni istopatologiche della placenta ad esiti a distanza in nati pretermine ELBW. L'istologia placentare è stata distinta in due possibili gruppi di soggetti a maggior rischio neuroevolutivo: un primo gruppo caratterizzato dal riscontro all'istologia placentare di nodi sinciziali¹ prevalentemente associata clinicamente a preeclampsia e ritardo di crescita in utero che risulta maggiormente correlato ad evoluzione in PCI; un secondo gruppo caratterizzato dal riscontro all'istologia placentare di edema villosa, associato clinicamente a gradi più severi di corioamnionite e più bassa età gestazionale, e che mostra un aumentato rischio di disturbi delle funzioni esecutive e della memoria. I risultati di Redline et al. depongono per un maggior rischio di evoluzione in PCI quando vi è un danno da ipoperfusione placentare e un maggior rischio di disordini neuropsicologici quando vi è una sofferenza vascolare fetale. Gli Autori concludono che permangono da chiarire i sottostanti meccanismi patogenetici che correlano il danno vascolare agli esiti; sottolineano come una severa ipoperfusione placentare induce un inversione dei flussi nei grandi vasi compresa l'arteria cerebrale media fetale, mentre lesioni vascolari fetali possono indurre una coagulopatia fetale.

Una criticità evidenziata in questo studio è stata la difficoltà di reclutamento in follow-up di pazienti afferenti ad una Terapia Intensiva Neonatale di III livello per la frequente provenienza dei pazienti da zone di residenza lontane.

Questo ha compromesso la numerosità finale del campione di studio gravando sull'assenza di significatività statistica in alcune probabili correlazioni (errore tipo II).

Tale criticità potrà essere corretta in futuro mediante programmazione di un follow-up neuroevolutivo all'atto della dimissione dalla patologia neonatale.

Nonostante la limitata numerosità della popolazione lo studio risulta aggiungere un ulteriore tassello alla ricerca attuale che punta ad identificare gruppi di nati pretermine a maggior rischio neuroevolutivo, ricercando nella storia della gravidanza le correlazioni esistenti tra cause di prematurità ed esiti a distanza.

"The mechanism(s) by which in utero events impact brain injury resulting in subsequent adverse neurodevelopment are extraordinarily complex. Understanding the pathways that lead to observed associations is a challenge that will require immense ongoing scientific rigor". (Andrews, 2008)

8. TABELLE E GRAFICI

Tabella 2. Complicanze insorte nel periodo neonatale nei due gruppi (CA e non CA); n° casi (%). RDS: sindrome da distress respiratorio; BPD: displasia broncopolmonare (considerata come O₂ dipendenza alla 36 SG); IVH: emorragia intraventricolare; ROP: retinopatia della prematurità.

COMPLICANZE NEONATALI	CA (n = 13)	Non CA (n = 24)	p
RDS	10 (76.9%)	15 (62.5%)	0.37
BPD	5 (38.4%)	7 (29.2%)	0.71
IVH	2 (15.4%)	2 (8.3%)	0.44
ROP	7 (53.8%)	5 (20.8%)	<0.05

	CA	CATEGORIA			p	% con categoria ≥ 2
		1	2	3		
AL -VOC	SI	12	1	0	0,52	10,810811
		36,36%	50,00%	0,00%		
	NO	21	1	2		
		63,64%	50,00%	100,00%		
	Tutti	33	2	2		
AL-SOM	SI	11	2	0	0,48	16,216216
		35,48%	50,00%	0,00%		
	NO	20	2	2		
		64,52%	50,00%	100,00%		
	Tutti	31	4	2		
AVS-CUBI	SI	11	1	1	0,79	21,621622
		37,93%	25,00%	25,00%		
	NO	18	3	3		
		62,07%	75,00%	75,00%		
	Tutti	29	4	4		
FE-TOL	SI	11	1	1	0,64	24,324324
		39,29%	25,00%	20,00%		
	NO	17	3	4		
		60,71%	75,00%	80,00%		
	Tutti	28	4	5		
FE-FC	SI	8	4	1	0,93	35,135135
		33,33%	40,00%	33,33%		
	NO	16	6	2		
		66,67%	60,00%	66,67%		
	Tutti	24	10	3		
MEM- DD	SI	9	3	1	0,88	35,135135
		37,50%	33,33%	25,00%		
	NO	15	6	3		
		62,50%	66,67%	75,00%		
	Tutti	24	9	4		
MEM- DI	SI	10	1	2	0,09	37,837838
		43,48%	100,00%	15,38%		
	NO	13	0	11		
		56,52%	0,00%	84,62%		
	Tutti	23	1	13		
MBT-CORSI	SI	11	2	0	0,81	13,513514
		34,38%	40,00%			
	NO	21	3	0		
		65,63%	60,00%			
	Tutti	32	5	0		
ATT-SEL VIS	SI	7	4	2	0,56	43,243243
		33,33%	50,00%	25,00%		
	NO	14	4	6		
		66,67%	50,00%	75,00%		
	Tutti	21	8	8		
ATT-SOST	SI	10	0	3	0,01	24,324324
		35,71%	0,00%	100,00%		
	NO	18	6	0		
		64,29%	100,00%	0,00%		
	Tutti	28	6	3		

Tabella 3. Distribuzione dei risultati alle prove neuropsicologiche secondo le 3 categorie assegnate (1: prestazione nella norma; 2: prestazione lievemente deficitaria; 3: prestazione deficitaria).

LEGENDA:

AL-VOC: area linguaggio, vocabolario;

AL-SOM: area linguaggio, somiglianze;

AVS-CUBI: area visuo-spaziale, disegno con cubi;

FE-TOL: funzioni esecutive, Torre di Londra;

FE-FC: funzioni esecutive, fluenza categoriale;

MEM-DD: memoria verbale, Digit diretto;

MEM-DI: memoria verbale, Digit inverso;

MBT-Corsi: memoria breve termine, Corsi;

ATT-SEL VIS: attenzione, selettiva visiva;

ATT-SOST: attenzione, sostenuta.

Figura 1: punti t riportati ai tests neuropsicologici dai soggetti appartenenti ai 2 gruppi (CA - blu-, non CA - rosso -).

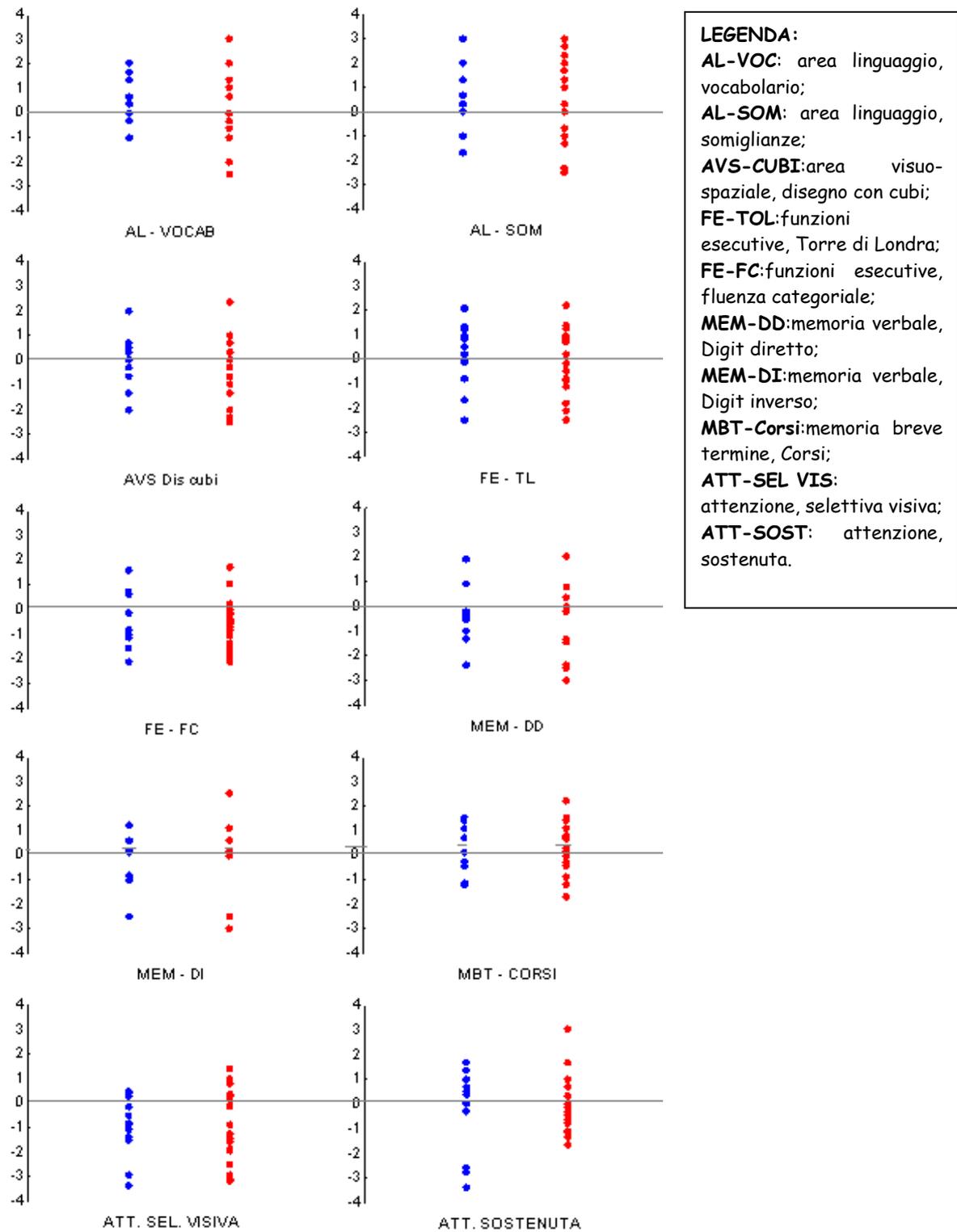


Tabella 4. Esito della valutazione neuropsicologica (punti \pm -media + DS-) rispetto a presenza o assenza di disturbo della coordinazione motoria (rispettivamente DCM 1, DCM 0).

	Media \pm S.D.		T di Student p
	DCM=0	DCM=1	
AL-Vocab	0,7920 \pm 1,22	0,2500 \pm 1,14	0,2047
AL-Som	1,1244 \pm 1,65	0,8042 \pm 1,22	0,5542
AVS-Dis cubi	0,4328 \pm 0,94	-0,8742 \pm 0,97	0,0004
FE-TL	0,4456 \pm 1,21	-0,9358 \pm 1,43	0,0041
FE-FC	-0,4028 \pm 0,96	-0,9942 \pm 0,94	0,0852
Mem-DD	-0,0096 \pm 1,29	-1,0575 \pm 1,18	0,0234
Mem-DI	-0,4456 \pm 1,39	-1,0383 \pm 1,80	0,2777
MBT-Corsi	0,4428 \pm 0,84	-0,1325 \pm 1,21	0,1005
Att-Sel Vis	-0,5116 \pm 1,14	-1,6658 \pm 1,26	0,0084
Att-Sost	-0,0628 \pm 1,32	-0,4000 \pm 1,22	0,4616

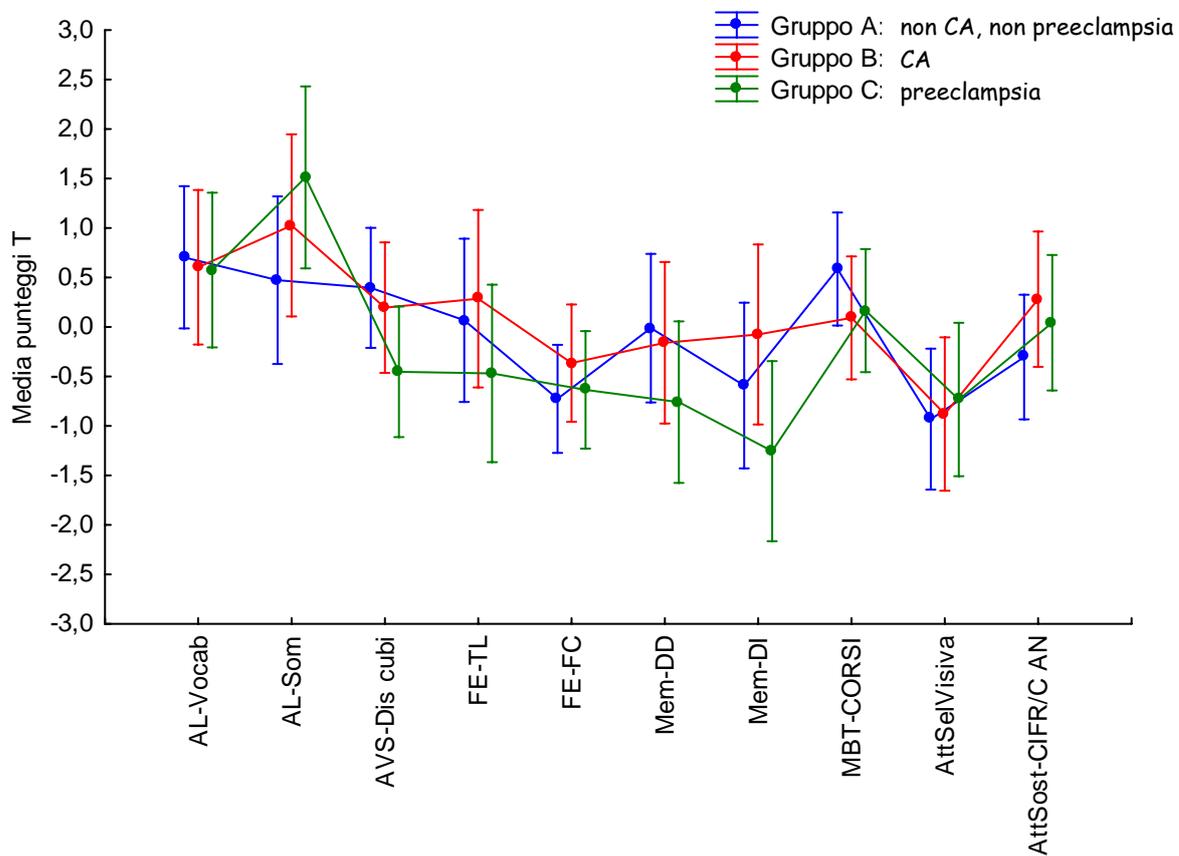
Tabella 5. Esito della valutazione neuropsicologica (punti \pm -media + DS-) rispetto a presenza o assenza di CA (rispettivamente CA, non CA).

	Media \pm S.D.		T di Student p
	CA	Non CA	
AL-Vocab	0,56 \pm 0,95	0,65 \pm 1,34	0,84
AL-Som	1,15 \pm 1,43	0,95 \pm 1,58	0,71
AVS-Dis cubi	0,01 \pm 0,98	0,01 \pm 1,22	0,99
FE-TL	0,32 \pm 1,31	-0,18 \pm 1,48	0,32
FE-FC	-0,43 \pm 1,06	-0,68 \pm 0,94	0,46
Mem-DD	-0,34 \pm 1,01	-0,35 \pm 1,51	0,98
MBT-Corsi	0,00 \pm 0,90	0,39 \pm 1,03	0,26
Att-Sel Vis	-0,97 \pm 1,18	-0,84 \pm 1,36	0,77
Att-Sost	-0,22 \pm 1,64	-0,14 \pm 1,08	0,86

Tabella 6. Esito della valutazione neuropsicologica secondo le 3 categorie assegnate (1: prestazione nella norma; 2: prestazione lievemente deficitaria; 3: prestazione deficitaria) in relazione a CA/non CA; media \pm DS. MEM-DI è risultata a distribuzione significativamente diversa dalla normale e pertanto è stata analizzata mediante statistica non parametrica (Mann-Whitney U test).

	Media \pm S.D.		Mann Whitney U test p
	CA	Non CA	
AL-Voc	1,08 \pm 0,28	1,21 \pm 0,59	0,79
AL- Som	1,15 \pm 0,38	1,25 \pm 0,61	0,91
AVS- Cubi	1,23 \pm 0,60	1,38 \pm 0,71	0,65
FE-TOL	1,23 \pm 0,60	1,46 \pm 0,78	0,50
FE-FC	1,46 \pm 0,66	1,42 \pm 0,65	0,84
MEM-DD	1,38 \pm 0,65	1,50 \pm 0,72	0,72
MEM-DI	-0,16 \pm 1,25	-0,90 \pm 1,64	0,14
MEM-DI	1,38 \pm 0,77	1,92 \pm 1,02	0,20
MBT-Corsi	1,15 \pm 0,38	1,13 \pm 0,34	0,89
ATT-SEL VIS	1,62 \pm 0,77	1,67 \pm 0,87	0,99
ATT-SOST	1,46 \pm 0,88	1,25 \pm 0,44	0,86

Figura 2: medie dei punti t ai vari tests neuropsicologici nei tre gruppi. Le barre verticali indicano intervalli di confidenza al 95%.



10. BIBLIOGRAFIA

- Alyward GP. (2002) Cognitive and neuropsychological outcomes: more than IQ score. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*;8(4):234-240.
- Alyward GP. (2003) Cognitive function in preterm infants. No simple answers. *JAMA*;289(6):752-753.
- Andrews WW, Cliver S, Biasini F, Peralta-Carcelen AM, Rector R, Alriksson-Schmidt AI, Faye-Petersen O, Waldemar C, Goldenberg R, Hauth JC. (2008) Early preterm birth: association between in utero exposure to acute inflammation and severe neurodevelopmental disability at 6 years of age. *Am J Obstet Gynecol*; 198(4): 466.e1–466.e11.
- Arpino C, D'Argenzio L, Ticconi C, Di Paolo A, Stellin V, Lopez L, Curatolo P. (2005) Brain damage in preterm infants: etiological pathways. *Ann Ist Super Sanità* ;41(2):229–237.
- Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Cradock MM, Anand KJ. (2002) Cognitive and behavioural outcomes of school-age children who were born preterm: a meta-analysis. *JAMA*;288(6):728-737.
- Bisiacchi PS, Cendron M, Gugliotta M, Tressoldi PE, Vio C. (2005) Batteria di valutazione neuropsicologica per l'età evolutiva. Erickson Ed.
- Bisiacchi PS, Lonciari I, Liguoro S. (1997) Approccio neuropsicologico ai disturbi cognitivi in età evolutiva. Proposta di uno strumento di valutazione. Cedam Ed.
- Botting N, Powels A, Cooke RWI, et al. (1997) Attention deficit hyperactivity disorders and other psychiatric outcomes in very low birthweight children at 12 years. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*;8:931-941.
- Bowen JR, Gibson F L, Hand PJ. (2002) Educational outcome at 8 years for children who were born extremely prematurely: A controlled study. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 38, 438–444.

- Breslau N. (1995) Psychiatric sequelae of low birthweight. *Epidemiol Rev*;17:96-106.
- Breslau N., Chilcoat HD. (2000) Psychiatric sequelae of low birth weight at 11 years of age. *Biol Psychiatry*;47:1005-1011.
- Dammann O, Allred EN, Leviton A, Shen-Schwarz S, Heller D, genesi DR, et al. (2004) Fetal vasculitis in preterm newborns: interrelationships, modifiers, and antecedents. *Placenta*;25(10):788-796.
- Dammann O, Drescher J, Veelken N. (2003) Maternal fever at birth and non-verbal intelligence at age 9 years in preterm infants. *Dev Med Child Neurol*;45:148-151.
- Dammann O, Leviton A. (1997) Maternal intrauterine infection, cytokines, and brain damage in the preterm newborn. *Pediatr Res*;42:1–8.
- Dammann O, Leviton A. (2004) Inflammatory brain damage in preterm newborns—dry numbers, wet lab, and causal inferences. *Ear Hum Dev* ;79:1–15.
- Dammann O, Leviton A. (2006) Neuroimaging and the prediction of outcomes in preterm infants. *N Engl J Med*;355:727-729.
- Davis NM, Ford GW, Anderson PJ, Doyle LW, & the Victorian Infant Collaborative Study Group. (2007) Developmental coordination disorder at 8 years of age in a regional cohort of extremely-low-birthweight or very preterm infants. *Developmental Medicine & Child Neurology*, 49, 325–330.
- De Felice C, Toti P, Laurini RN, Stumpo M, Picciolini E, Todros T, Tanganelli P, Buonocore G, Bracci R. (2001) Early neonatal brain injury in histologic chorioamnionitis. *J Pediatr*;138:101-3.
- De Vries LS, Van Haastert IL, Rademaker KJ, Koopman C, Groenendaal F. (2004) Ultrasound abnormalities preceding cerebral palsy in high-risk preterm infants. *J Pediatr*;144(6):815–820.
- Deguchi K, Oguchi K, Takashima S. (1997) Characteristic neuropathology of leukomalacia in extremely low birth weight infants. *Pediatr Neurol*;16(4):296–300.

- Duley L, Meher S, Abalos E. (2006). Management of pre-eclampsia. *BMJ* 25;232(7539):463-8.
- Elgen I, Sommerfelt K, Markestad T. (2002) Population based, controlled study of behavioural problems and psychiatric disorders in low birthweight children at 11 years of age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*;87:F128-132.
- Erenberg A, Lemons J, Sia C et al. (1999) Newborn and infant hearing loss: detection and intervention. American Academy of Pediatrics. Task force on Newborn and Infant Hearing, 1998-1999. *Pediatrics*;103:527-530.
- Evrard P, Gressens P, Volpe JJ. (1992) New concepts to understand the neurological consequences of subcortical lesion in the premature brain. *Biol Neonate*;61:1-3.
- Fanaroff AA, Stoll BJ, Wright LL et al. (2007) Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol*;196:147 e1-8.
- Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. (1998) The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*;179:194–202.
- Goncalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R. (2002) Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*;8(1):3-13.
- Greco A, Minghetti L, Popolo M, Pietrobon B, Franzoi M, Chiandetti L, Suppiej A. (2007) Plasma levels of 15-F2t-isoprostane in newborn infants are affected by mode of delivery. *Clin Biochem*;40(18):1420-22.
- Gressens P, Richelme C, Kadhim HJ, Gadisseux JF, Evrard P. (1992) The germinative zone produces the most cortical astrocytes after neuronal migration in the developing mammalian brain. *Biol Neonate*;62:4-24.
- Hack M, Taylor HG, Drotar D, Schluchter M, Cartar L, Wilson-Costello D, et al. (2005b) Poor predictive validity of the Bayley scales of infant development for cognitive function of extremely low birth weight children at school age. *Pediatrics*, 116, 333–341.

- Hack M, Taylor HG, Drotar D, et al. (2005a) Chronic conditions, functional limitations, and special health care needs of school-aged children born with extremely low-birth-weight in the 1990's. *JAMA*;294:318-25.
- Hadders-Algra M. (2002). Two distinct forms of minor neuromotor dysfunction: Perspectives emerging from a review of data of the groningen perinatal project. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 44, 561–571.
- Hagberg B, Hagberg G, Beckung E, Uvebrant P. (2001) Changing panorama of cerebral palsy in Sweden. VIII. Prevalence and origin in the birth year period 1991-94. *Acta Paediatr*;90(3):271-277.
- Hagberg H, Wennerholm U, Savman K. (2002) Sequelae of chorioamnionitis. *Curr Opin Infect Dis*;15:301-306.
- Hamilton BE, Minino AM, Martin JA, Kochanek KD, Strobino DM, Guyer B. (2007) Annual summary of vital statistics:2005. *Pediatrics*;119:345-60.
- Hellstrom A, Hard AL, Svensson E, Niklasson A. (2000) Ocular fundus abnormalities in children born before 29 weeks of gestation: a population-based study. *Eye*;14(Pt 3A):324-329.
- Holling EE, Leviton A. Characteristics of cranial ultrasound white-matter echolucencies that predict disability: a review. *Dev Med Child Neurol*1999;41:136-139.
- Horbar JD, Badger GJ, Carpenter JH, et al. (2002) Trends in mortality and morbidity for very low birth weight infants, 1991-1999. *Pediatrics*;110:143-151.
- Jacobson LK, Dutton GN. Periventricular leukomalacia: an important cause of visual and ocular motility dysfunction in children. (2000) *Surv Ophthalmol*;45:1-13.
- Joint Committee on Infant Hearing. (2000) Year 2000 Position Statement: principles and guidelines for early detection and intervention programs. *Pediatrics*;106:798-817.

- Kent A, Lomas F, Hurrion E, Dahlstrom J. (2005) Antenatal steroid may reduce adverse neurological outcome following chorioamnionitis: neurodevelopmental outcome and chorioamnionitis in premature infants. *J Paediatr Child Health*;41:186-190.
- Korkman M, Mikkola K, Ritari N, Tommiska V, Salokorpi T, Haataja L, Tammela O, Pääkkönen L, Olsén P, Fellman V. (2008) Neurocognitive Test Profiles of extremely Low Birth Weight Five-Year-Old Children Differ According to Neuromotor Status. *Developmental Neuropsychology*;33(5):637-655.
- Kuban K, Sanocka U, Leviton A, Allred EN, Pagano M, Dammann O, Share J, Rosenfeld D, Abiri M, Di Salvo D, Doubilet P, Kairam R, Kazan E, Kirpekar M, Schonfeld S. (1999) White matter disorders of prematurity: association with intraventricular hemorrhage and ventriculomegaly. The Developmental Epidemiology Network. *J Pediatr*;134(5):539–546.
- Litt J, Taylor HG, Klein N, Hack M. (2005) Learning disabilities in children with very low birthweight: prevalence, neuropsychological correlates, and educational interventions. *J Learn Dis*;38(2):130-141.
- Marlow N, Hennessy EH, Bracewell MA, Wolke D & EPICure Study Group (2007). Motor and executive function at 6 years of age after extremely preterm birth. *Pediatrics*, 120 (4), 793-804.
- Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M & EPICure Study Group. (2005) Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *The New England Journal of Medicine*, 352, 9–19.
- Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Munson ML. (2003) Births:final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep*; 52(10):1-113.
- Mikkola K, Ritari N, Tommiska V, Salokorpi T, Lehtonen L, Tammela O, et al. (2005). Neurodevelopmental outcome at 5 years of age of a national cohort of extremely low birth weight infants who were born in 1996–1997. *Pediatrics*, 116, 1391–1400.

- Moore M., Mansour JM, Redline RW, Mercer BM, Moore JJ. (2006) The physiology of fetal membrane rupture: insight gained from the determination of physical properties. *Placenta*;27:1037-1051.
- Naeye RL, Maisels J, Lorenz RP, Botti JJ. (1983) The clinical significance of placenta villous edema. *Pediatrics*;71:588-94.
- Patra K, Wilson-Costello D, Taylor HG, Mercuri-Minich N, Hack M. (2006) Grades I-II intraventricular hemorrhage in extremely low birth weight infants: effects on neurodevelopment. *J Pediatrics*;149:169-173.
- Picciolini O, Vegni C, Gardon L, Gangi S, De Bon G, Gallia P. (1998) Prematurità grave e nuove disabilità: caratteristiche e possibilità di intervento. *Riabilitazione Oggi*;Anno XV(10):36-46.
- Platt MJ, Cans C, Johnson A et al. (2007) Trends in cerebral palsy among infants of very low birthweight (<1500 g) or born prematurely (<32 weeks) in 16 European centres: a database study. *Lancet*;369:43-50.
- Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C. (2003) Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol*;6:435-48.
- Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C. (2003) amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol*:6:435-448.
- Redline RW, Minich N, Taylor HG, Hack M. (2007) Placental lesions as predictors of cerebral palsy and deviant neurocognitive function at school age in extremely low birth weight infants (<1kg). *Pediatric Developmental Pathology*,10,282–292.
- Redline RW, Wilson-Castello D, Borawski E, Fanaroff AA, Hack M. (1998) Placental lesions associated with neurologic impairment and cerebral palsy in very low birth weight infants. *Arch Pathol Lab Med*;122:1091-1098.
- Redline RW. (2004) Placental inflammation. *Semin Neonatol*; 9:265-74.
- Redline RW. (2005) Severe fetal placental vascular lesions in term infants with neurologic impairment. *Am J Obstet Gynecol*;192:452-457.

- Redline RW. (2006) Inflammatory responses in the placenta and umbilical cord. *Semin Fetal Neonatal Med*;11(5):296-301.
- Riva D. (1998) Le lesioni del sistema nervoso centrale del prematuro e gli aspetti neuropsicologici. *Riabilitazione Oggi*;Anno XV(10):5-8.
- Rizzardi E, De Benedittis M, Franzoi M, Boldrin P, Mento G, Gharapetian, Chiandetti L, Ermani M, Orzan E, Suppiej A. (2006) Screening uditivo in terapia intensiva neonatale: peculiarità e metodologie. *Riv It Med Perin*;8(2):7-11.
- Roelants-van Rjin AM, Groenendaal F, Beek FJ, Eken P, van Haastert IC, de Vries LS. (2001) Parenchymal brain injury in the preterm infant: comparison of cranial ultrasound, MRI and neurodevelopmental outcome. *Neuropediatrics*;32(2):80–89.
- Romero R, Espinoza J, Goncalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. (2007) The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med*;25:21–39.
- Schlapbach LJ, Ersch J, Adams M, Bernet V, Bucher HU, Latal B. (2010) Impact of chorioamnionitis and preeclampsia on neurodevelopmental outcome in preterm infants below 32 weeks gestational age. Accepted article; doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.01861.x
- Shankaran S, Johnson Y, Langer JC, Vohr BR, Fanaroff AA, Wright LL et al. (2004) Outcome of extremely-low-birth-weight infants at highest risk: Gestational age < or = 24 weeks, birth weight < or = 750 g, and 1-minute apgar < or = 3. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 191, 1084–1091.
- Sherlock RL, Anderson P, Doyle LW & the Victorian Infant Collaborative Study Group. (2005) Neurodevelopmental sequelae of intraventricular haemorrhage at 8 years of age in a regional cohort of ELBW/very preterm infants. *Early Human Development*, 81, 909–916.

- Sommerfelt K, Markestad T, Ellersten B. (1998) Neuropsychological performance in low birth weight preschoolers: a population-based, controlled study. *Eur J Pediatr*;(157):53-58.
- Suppiej A, Franzoi M, Vedovato S, Marucco A, Chiarelli S, Zanardo V. (2009) Neurodevelopmental outcome in preterm hystological chorioamnionitis. *Early Hum Dev*;85(3):187-9.
- Taylor HG, Klein N, Drotar D, Schluchter M & Hack, M. (2006) Consequences and risks of <1000-g birth weight for neuropsychological skills, achievement, and adaptive functioning. *Journal of Developmental and Behavioral Pediatrics*, 27, 459–69.
- Taylor HG, Klein N, Hack M. (2000) School-age consequences of birth weight less than 750 g: a review and update. *Dev Neuropsychology* 2000;17(3):289-321.
- Taylor HG, Klein N, Minich NM, Hack M. (2000) Verbal memory deficits in children with less than 750 g birth weight. 6, 49–63.
- Taylor HG, Minich N, Bangert B, Filipek PA, Hack M. (2004) Long-term neuropsychological outcomes of very low birth weight: associations with early risks for periventricular brain insults. *Journal of the International Neuropsychological Society*, 10, 987–1004.
- Touwen BCL. (1979) Examination of the child with Minor Neurological Dysfunction. *Clinics in Developmental Medicine* 1979;71. SIMP, London, Heinemann.
- Vergani P, Patanè L, Doria P, Borroni C, Cappellini A, Pezzullo JC, Ghidini A. (2000) Risk factors for neonatal intraventricular haemorrhage in spontaneous prematurity at 32 weeks gestation or less. *Placenta*;21:402-7.
- Versland LB, Sommerfelt K, Elgen I. (2006) Maternal signs of chorioamnionitis: persistent cognitive impairment in low-birthweight children. *Acta Paediatrica*;95:231-235.

- Vohr BR, Widen JE, Cone-Wesson B, Sininger YS, Gorga MP, Folsom RC, Norton SJ. (2000) Identification of neonatal hearing impairment: characteristic of infants in the neonatal intensive care unit and well-baby nursery. *Ear & Hearing*;21:373-382.
- Vohr BR, Wright LL, Dusick AM, Mele L, Verter J, Steichen JJ et al. (2000) Neurodevelopmental and functional outcomes of extremely low birth weight infants in the national institute of child health and human development neonatal research network, 1993-1994. *Pediatrics*, 105, 1216–1226.
- Vohr BR, Wright LL, Dusick AM, Mele L, Verter J, Steichen JJ, Simon NP, Wilson DC, Broyles S, Bauer CR, Delaney-Black V, Yolton KA, Fleisher BE, Papile LA, Kaplan MD. (2000) Neurodevelopmental and functional outcomes of extremely low birth weight infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993-1994. *Pediatrics*;105(6):1216-1226.
- Vohr BR, Wright LL, Poole WK et al. (2005) Neurodevelopmental outcomes of extremely low birth weight infants <32 weeks' gestation between 1993 and 1998. *Pediatrics*;116:635-43.
- Volpe JJ. (1995) *Neurology of the Newborn*, 3rd ed. Philadelphia: Saunders.
- Wechsler D. (1991) *Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence*. Firenze, OS.
- Wechsler D. (2008) *WISC-III. Scala di intelligenza Wechsler per bambini.*, Firenze, OS.
- Woodward LJ, Anderson PJ, Austin NC, Howard K, Inder TE. (2006) Neonatal MRI to predict neurodevelopmental outcomes in preterm infants. *N Engl J Med*;355:685-694.
- Wu YW, Escobar GJ, Grether JK, Coen LA, Greene JD, Newman TB. (2003) Chorioamnionitis and cerebralpalsy in term and near-term infants. *JAMA*;290:2677–84.

- Wu YW. (2002) Systematic review of chorioamnionitis and cerebral palsy. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*;8(1):25-29.
- Yoon BH, Romero R, Park JS, Kim M, Oh SY, Kim CJ, Jim JK. (2000) The relationship among inflammatory lesions of the umbilical cord (funisitis), umbilical cord plasma interleukin-6 concentration, amniotic fluid infection, and neonatal sepsis. *Am J Obstet Gynecol*;183:1124–1129.
- Zanardo V, Franzoi M, Vedovato S, Trevisanuto D, Chiarelli S, Suppiej A. (2008) Placental lesions and abnormal neurocognitive function at school age in ELBW infants. *Pediatr Dev Pathol*. 11(2):164.
- Zanardo V, Vedovato S, Suppiej A, Trevisanuto D, Migliore M, Di Venosa B, Chiarelli S. (2008) Histological inflammatory responses in the placenta and early neonatal brain injury. *Pediatr Dev Pathol*;11(5):350-4.
- Zanardo V, Vedovato S, Trevisanuto D, Suppiej A, Cosmi E, Fais GF, Chiarelli S. (2006) Histological chorioamnionitis and neonatal leukemoid reaction in low-birth-weight infants. *Hum Pathol*;37:87-91.