



Università degli Studi di Genova
Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche

Dottorato in Scienze Pediatriche – XXXIII ciclo
Curriculum Specialità Pediatriche

Tesi di dottorato

**Risonanza magnetica cerebrale e outcome
neurologico nei pazienti con peso molto
basso alla nascita: ruolo delle alterazioni di
sostanza bianca e delle altre lesioni cerebrali
connesse con la prematurità**

Tutor:

Prof. Luca A. Ramenghi

Candidato:

Dott.ssa Mariya Malova

Anno Accademico 2020/2021

INDICE

Introduzione	pagina 3
Cervello del neonato pretermine	pagina 3
Lesioni della sostanza bianca: PVL e PWML	pagina 5
Lesioni emorragiche: IVH e CBH	pagina 9
Risonanza magnetica cerebrale e sequenza SWI	pagina 12
Valutazione del outcome neurocognitivo	pagina 14
Obiettivi dello studio	pagina 17
Pazienti e metodi	pagina 17
Popolazione dello studio	pagina 17
Raccolta dei dati	pagina 17
Risonanza magnetica	pagina 18
Follow-up	pagina 24
Analisi dei dati	pagina 24
Risultati	pagina 27
<i>Prima parte:</i>	pagina 27
• Fattori di rischio per le PWML	pagina 27
• Differenze tra le SWI+PWML e SWI- PWML	pagina 31
<i>Seconda parte:</i>	pagina 33
• Lesioni cerebrali connessi con la prematurità	pagina 34
• Outcome neurologico a tre anni di età	pagina 34
Discussione	pagina 38
Conclusioni	pagina 45
Bibliografia	pagina 47

Introduzione

Cervello del neonato pretermine

La nascita pretermine (prima delle 37 settimane di età gestazionale) coinvolge oggi circa il 10% dei neonati a livello mondiale, esponendoli ad un aumentato rischio di complicanze a breve e lungo termine [Blencowe 2012]. I neonati con un peso molto basso alla nascita (VLBW, very low birth weight, <1500 gr) rappresentano la parte più fragile di questa popolazione: nonostante il progressivo e continuo miglioramento delle cure perinatali e il conseguente aumento di sopravvivenza dei neonati appartenenti a questa categoria, la frequenza di disabilità neuro-cognitive a lungo termine è rimasta pressoché invariata negli ultimi anni [Eichenwald 2008].

Un utilizzo sempre più ampio della risonanza magnetica cerebrale ha permesso ai ricercatori di formulare il concetto di vulnerabilità cerebrale dipendente dall'età gestazionale, ipotizzando che la natura e la sede della lesione cerebrale dipendano dalle caratteristiche dell'insulto, dalla vulnerabilità tissutale e cellulare specifica, e dalla età gestazionale di nascita del neonato [Ramenghi 2011]. Esiste una variabilità diversa da area ad area cerebrale che si può modificare nelle diverse età gestazionali durante lo sviluppo cerebrale e potrebbe dipendere da diversi fattori, come i meccanismi antiossidanti cellulari o la densità dei ricettori del glutammato [Patel 2005]. Dal punto di vista clinico, quello che si può osservare è un rischio diversificato per le diverse lesioni cerebrali in base alle differenti età gestazionali, con frequenza di lesioni emorragiche inversamente proporzionali all'età gestazionale e lesioni della sostanza bianca collegate con periodi di maggiore vulnerabilità di linee cellulari specifiche, come gli oligodendrociti (**Figura 1**).

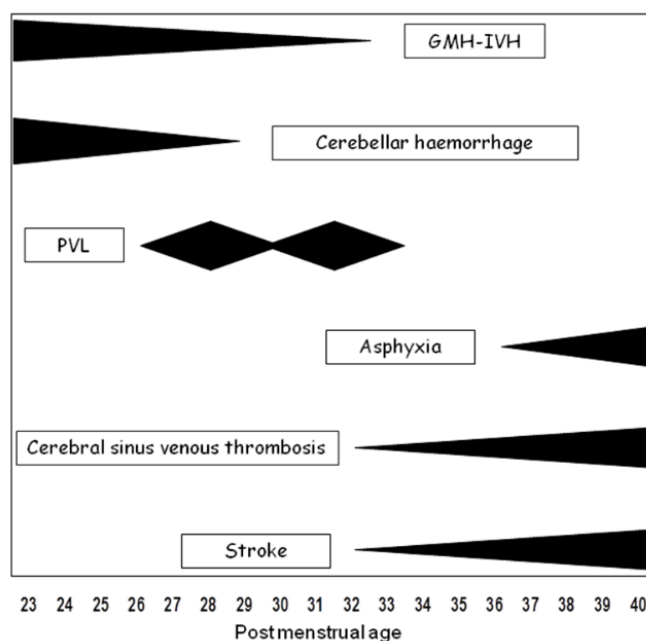


Figura 1. Rappresentazione schematica della variazione in incidenza delle lesioni cerebrali in relazione all'età gestazionale del paziente [Sannia 2015]

In effetti, nelle età gestazionali più basse, a partire dai margini di sopravvivenza, le lesioni cerebrali più tipiche saranno quelle emorragiche, come emorragia cerebellare (CBH, cerebellar haemorrhage) ed emorragia della matrice germinativa – emorragia intraventricolare (GMH-IVH, germinal matrix haemorrhage – intraventricular haemorrhage). In questa fase l'incidenza delle lesioni dipenderà anche dalle qualità delle cure perinatali e dalla possibilità di mantenere stabili parametri emodinamici, ma i protocolli di gestione specifici che potrebbero risultare più protettivi sono tutt'ora oggetto di studi [Sannia 2015]. Con l'aumento dell'età gestazionale, l'incidenza delle lesioni emorragiche decresce, e nei bambini con prematurità moderata e lieve (sopra 32 settimane) rappresenta un evento insolito e meritevole di ulteriori accertamenti.

D'altro canto, lesioni di sostanza bianca sembrano essere più frequenti nelle età gestazionali più alte. La forma più grave, leucomalacia periventricolare (PVL, periventricular leukomalacia), presentava in passato due picchi di incidenza: attorno 28-29 settimane e poi ancora nei bambini più grandi di 30 settimane [Sannia 2015].

Negli ultimi anni il miglioramento delle cure perinatali ha causato una riduzione significativa dell'incidenza di PVL [Hamrick 2004], ma allo stesso tempo è stata osservata con sempre maggiore frequenza la presenza di lesioni più subdole e con significato prognostico variabile, quali le lesioni puntate della sostanza bianca (PWML, punctate white matter lesions).

Lesioni della sostanza bianca: PVL e PWML

Le lesioni della sostanza bianca sono le forme più comuni di danno cerebrale con esiti a lungo termine nei neonati VLBW [Volpe 2009, Tolcos 2017]. Dal punto di vista fisiopatologico, il danno si esprime con un arresto della maturazione dei pre-oligodendrociti che non permette una mielinizzazione adeguata, oppure in una perdita diretta delle cellule della glia e delle fibre nervose ancora in fase di mielinizzazione, fenomeni causati dall'attivazione della microglia, dalla liberazione delle citochine e del glutammato e dalla produzione di radicali liberi [Volpe 2011, Back 2006, Khwaja 2008].

Il danno della sostanza bianca si verifica più frequentemente a livello periventricolare. Tra le possibili cause di questo fenomeno in letteratura viene citata la presenza di un elevato numero di pre-oligodendrociti maggiormente sensibili a diversi fattori, come la variabilità di ossigenazione e l'aumento dell'espressione del recettore per il glutammato GluR4 [Volpe 2011, Back 2001, Wisnowski 2013].

La forma più grave di danno della sostanza bianca nel bambino prematuro è la leucomalacia periventricolare (PVL) cistica, caratterizzata dalla presenza di estese aree necrotiche della sostanza bianca adiacente ai ventricoli laterali con frequente interessamento del centro semiovale e delle radiazioni ottiche (**Figura 2**) [Bancker & Larroche, 1962]. Tali lesioni possono comportare una atrofia dei talami e la riduzione

del volume della corteccia cerebrale, mentre a livello istologico sono osservabili la necrosi coagulativa, l'edema assonale e proliferazione gliale [Deng 2004].

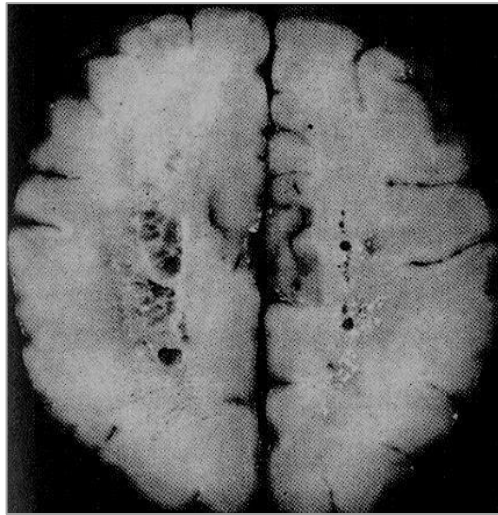


Figura 2. Leucomalacia periventricolare cistica all'autopsia

La diagnosi di PVL si esegue tramite ecografia cerebrale che inizialmente evidenzia una spiccata iperecogenicità periventricolare disomogenea, che col tempo evolve verso le tipiche lesioni cavitari (Figura 3) che possono confluire e, verso l'età corretta del termine, essere inglobate all'interno dei ventricoli laterali producendo un tipico aspetto squadrato [de Vries 2004].

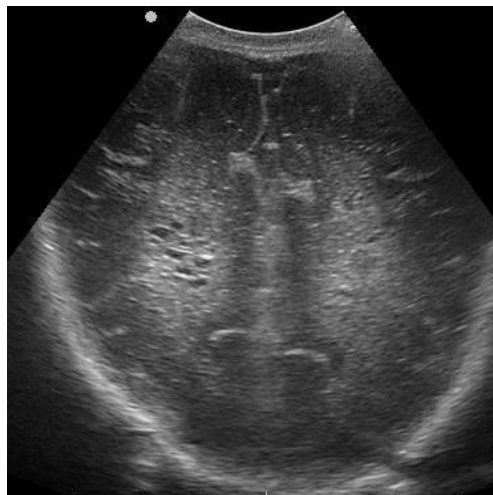


Figura 3. Leucomalacia periventricolare cistica all'ecografia cerebrale

Le tecniche di imaging avanzate, come la risonanza magnetica cerebrale, permettono una miglior sensibilità nella diagnosi di PVL, oltre a fornire indizi aggiuntivi nella formulazione della prognosi [Childs 2001]. Nel lungo termine la PVL

cistica è associata alla diplegia spastica (paralisi cerebrale) con difficoltà soprattutto sul piano motorio, anche se disturbi visivi, cognitivi e comportamentali ed epilessia sono stati descritti nei casi più gravi [Fazzi 1994, de Vries 2002, Ricci 2006].

In tempi più recenti la PVL cistica sta diventando sempre più rara, colpendo circa il 2% della popolazione VLBW. La ragione principale di questo cambiamento è tuttora discussa e non nota, tra i possibili fattori possiamo citare il miglioramento delle tecniche di ventilazione con un minor numero di ipocapnie importanti, la miglior qualità della nascita dei nati pretermine con il “timing” di parto ottimizzato anche con utilizzo del taglio cesareo, una più ampia profilassi antibiotica e una attenta profilassi steroidea prenatale [van Haastert 2011].

D’altro canto, stiamo assistendo all’aumento di incidenza della forma più lieve di lesioni di sostanza bianca, chiamate “lesioni puntate” (PWML, punctate white matter lesions), che colpisce più del 20% dei bambini VLBW [Leijser 2009, de Bruïne 2011, Tortora 2015, Tusor 2017]. Queste lesioni condividono alcuni fattori di rischio con PVL e talvolta possono anche coesistere con le cavitazioni tipiche, sono pertanto spesso interpretate come parte più lieve dello spettro di PVL. [Rutherford 2010] (Figura 4).

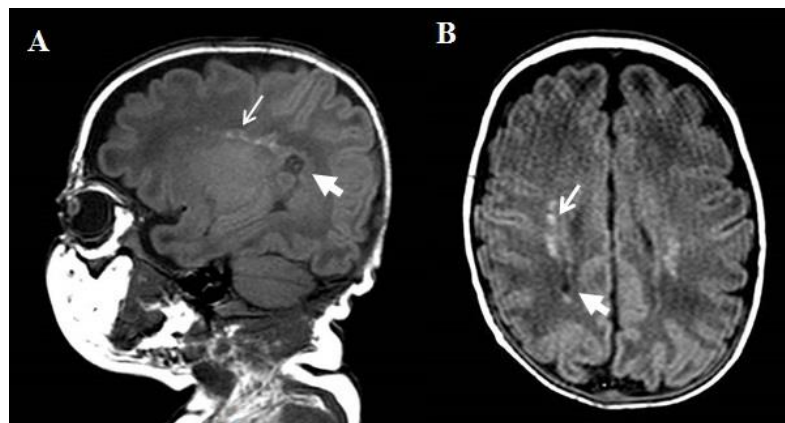


Figura 4. Lesioni puntate della sostanza bianca (freccia sottile) e leucomalacia periventricolare cistica (freccia spessa) osservabili nello stesso paziente VLBW alla risonanza magnetica cerebrale (A – sequenza T1 sagittale, B – sequenza T1 assiale).

Le lesioni puntate della sostanza bianca vengono definite nella risonanza magnetica cerebrale come puntiformi alterazioni della intensità di segnale (aumentato in T1 e/o diminuzione in T2) nella sostanza bianca periventricolare (**Figura 5**) [Childs 2001, Cornette 2002, Rutherford 2010, Kersbergen 2014].

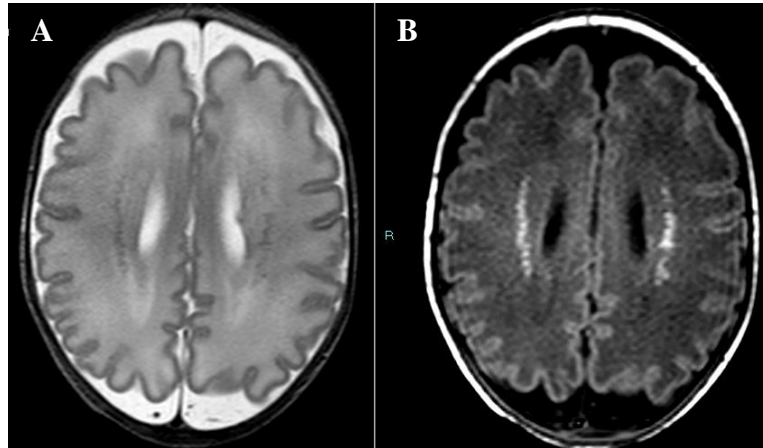


Figura 5. PWML visti alla risonanza magnetica cerebrale come multiple aree di diminuzione di segnale T2 (A) e di aumento di segnale T1 (B) nella scansione assiale.

Talvolta le PWML possono essere osservate anche in ecografia come piccole zone di iperecogenicità persistente [Childs 2001]. Le PWML sembrano riflettere alterazioni microstrutturali nella sostanza bianca e sono situate soprattutto nella corona radiata, nella sostanza bianca periventricolare posteriore e vicino alle radiazioni ottiche al pari della PVL [Benders 2014]. Il ritardo di maturazione cerebrale e le alterazioni microstrutturali del tessuto adiacente sono stati associate a PWML [Bassi 2011, Ramenghi 2007].

Le lesioni puntate sono spesso trattate come fossero espressione di ischemie ed infiammazione, anche se dalla loro prima descrizione è stato suggerito che almeno parte delle PWML potesse essere di natura emorragico-petecchiale [Cornette 2002, Rutherford 2010]. I rari dati istologici disponibili descrivono le PWML come conglomerati di microglia attivata e focolai di congestione vascolare, confermando questa possibile duplice patogenesi [Rutherford 2010]. Inoltre, alcune lesioni puntate sono state osservate in stretta connessione con le vene midollari congeste, suggerendo

patogenesi simile a quella di piccoli infarti venosi [Rutherford 2010, Niwa 2011]. In assenza di ampi studi anatomico-patologici e di modelli animali, la fisiopatologia delle lesioni puntate e la loro potenziale eterogeneità rimangono argomento di discussione scientifica.

Dal punto di vista clinico, i fattori di rischio connessi con le PWML sono stati studiati solo parzialmente [Tusor 2017, Wagenaar 2017]. Inoltre, non è mai stata studiata la possibile differenza tra i fattori di rischio connessi con le PWML di carattere petecchiale e non-petecchiale.

Il significato prognostico delle PWML è tuttora oggetto di discussione in letteratura. In alcuni casi il follow-up dei pazienti sembra essere completamente normale, mentre in altri è stato registrato ritardo psicomotorio, difficoltà motorie e sviluppo di paralisi cerebrale infantile [de Bruïne 2011, Kersbergen 2014]. Il numero di lesioni (superiore a 6 o superiore a 20), il loro pattern di distribuzione (lineare o a cluster), la loro localizzazione (anteriore o posteriore) e il volume di tessuto compromesso sono tra i fattori maggiormente utilizzati per provare a formulare la valenza prognostica di tali lesioni [de Bruïne 2011, Tusor 2017, Kersbergen 2014, Guo 2017, Cayam-Rand 2019]. Non è noto invece, né mai studiato fino ad oggi, il valore prognostico delle diverse tipologie di lesioni puntate (petecchiali o non) nella formulazione prognostica psicomotoria di pazienti con peso molto basso alla nascita (VLBW).

Lesioni emorragiche: GMH-IVH e CBH

Durante lo sviluppo fetale una delle sedi importanti per la produzione e proliferazione neuronale è la matrice germinativa, situata nelle zone subependimali dei ventricoli cerebrali. La matrice germinativa raggiunge il suo massimo sviluppo intorno alla 24/25a settimana di età gestazionale, dopodiché inizia gradualmente a ridursi

andando incontro ad una progressiva involuzione anatomica: il processo di involuzione inizia dai corni posteriori dei ventricoli laterali e procede in senso craniale terminando, alla fine della gestazione, intorno ai corni anteriori [Evans 1997]. Generalmente fino alle 32 settimane la matrice germinativa è ancora ben rappresentata in prossimità del nucleo caudato [Panet 1994]. Tale area risulta particolarmente vulnerabile a insulti di natura infettiva, vascolare ed infiammatoria, soprattutto in caso di nascita pretermine, con il rischio di lesioni emorragiche inversamente proporzionale all'età gestazionale [Sannia 2015].

In effetti, è proprio nella vena terminale della matrice germinativa che ha l'origine la lesione emorragica tipica del neonato prematuro - l'emorragia della matrice germinativa - emorragia intraventricolare (GMH-IVH) [Panet 1994]. L'origine venosa della GMH-IVH e la sua dipendenza dalla conformazione delle vene, con forma ad "U" che può favorire il ristagno venoso, è stata recentemente confermata da studi di risonanza magnetica [Tortora 2018], in linea con un aumentato rischio per GMH-IVH in condizioni di trombofilie congenite che favoriscono fenomeni di micro-trombosi e ristagno venoso [Ramenghi 2011].

La classificazione più comunemente utilizzata per la GMH-IVH prevede la suddivisione in gradi dal I al IV, dove il I grado corrisponde all'emorragia limitata alla matrice germinativa subependimale (GMH), il II grado è rappresentato dalla emorragia intraventricolare in assenza di dilatazione, il III grado è caratterizzato dalla dilatazione ventricolare acuta mentre il IV grado è definito dalla presenza di infarto venoso parenchimale (**Figura 6**) [Papile 1978].

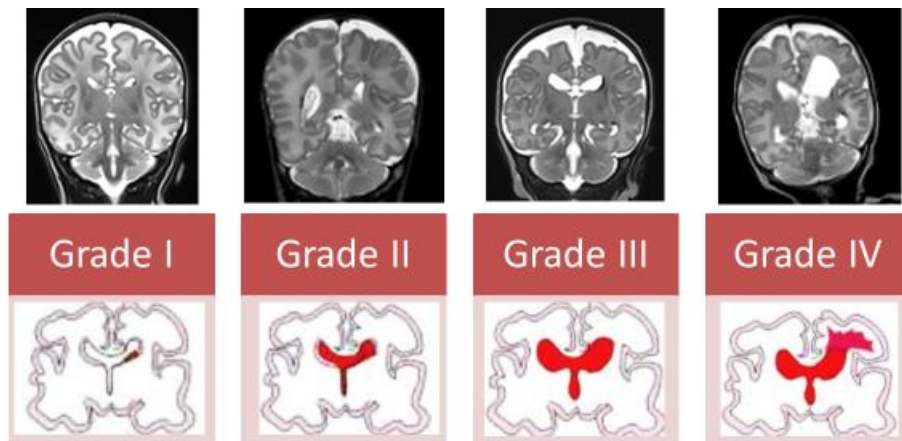


Figura 6. Quattro gradi di GMH-IVH secondo Papile visualizzati in risonanza magnetica cerebrale (scansione coronale, sequenza T2) e rappresentati schematicamente.

L'incidenza complessiva di GMH-IVH nella popolazione VLBW varia tra il 20% e il 25% [Volpe 2008]. Come già accennato, il rischio di GMH-IVH aumenta con il decrescere dell'età gestazionale: nei bambini sopravvissuti nati a 24 settimane di gestazione l'incidenza delle forme gravi di GMH-IVH varia tra il 10% e il 25%, mentre nei bambini nati dopo la ventottesima settimana queste forme si riscontrano in meno di 5% dei casi [Stoll 2010, Ancel 2015].

La letteratura scientifica è unanime nell'osservare come la GMH-IVH di grado III e IV rappresenti un fattore prognostico negativo per lo sviluppo neuro-cognitivo del bambino; esistono invece evidenze contrastanti in merito agli effetti della GMH-IVH di gradi I e II [Pinto-Martin 1999, Ross 1992, Patra 2006, Klebermass-Schrehof 2012].

La diagnosi di GMH-IVH viene di solito fatta in fase acuta grazie allo screening ecografico transfontanellare routinario nella popolazione VLBW, mentre la risonanza magnetica cerebrale eseguita all'età corretta del termine permette di evidenziare emorragie piccole che possono sfuggire all'ecografia [Parodi 2015].

Anche l'emorragia cerebellare (CBH) colpisce prevalentemente i neonati con età gestazionale molto bassa. In effetti, la CBH viene riscontrata associata alla GMH-

IVH in circa 3/4 dei casi, e anche la sua patogenesi sembra simile: lo strato granulare esterno del cervelletto svolge funzioni simili alla matrice germinativa [Volpe 2009].

L'emorragia cerebellare può essere suddivisa in tre gradi: la CBH massiva, con coinvolgimento di almeno 1/3 del parenchima cerebellare, la micro-CBH, caratterizzata da piccole multiple emorragie "petecchiali" del diametro di pochi millimetri, e la variante intermedia, o CBH limitata [Parodi 2015]. Mentre le lesioni massive possono essere diagnosticate anche con un'ecografia transfontanellare classica, quelle limitate (**Figura 7**) spesso richiedono la visualizzazione mediante finestra mastoidea per poter essere individuate. Le lesioni petecchiali sono visualizzabili esclusivamente con la risonanza magnetica [Parodi 2015].

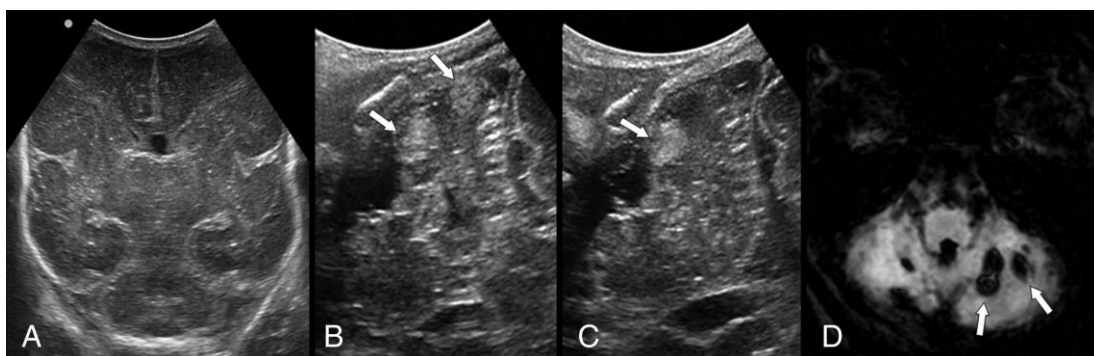


Figura 7. CBH limitate (freccie) nel paziente nato a 27 settimane di età gestazionale. Lesioni erano invisibili all'ecografia transfontanellare eseguita tramite fontanella anteriore (A), mentre potevano essere visualizzati tramite la fontanella mastoidea (B e C). Immagine D mostra le stesse lesioni in sequenza SWI di risonanza magnetica cerebrale. [Parodi 2015]

Le CBH massive, soprattutto in caso di coinvolgimento del verme, sono state associate ad un outcome neurologico sfavorevole a lungo termine, mentre non esiste al momento opinione univoca in letteratura circa le conseguenze delle lesioni cerebellari di basso grado [Limperopoulos 2007, Zayek 2012, Tam 2011, Steggerda 2009, Boswinkel 2019].

Risonanza magnetica cerebrale e sequenza SWI

La risonanza magnetica cerebrale rappresenta il "gold-standard" per la valutazione delle lesioni cerebrali connesse con la prematurità [Ramenghi 2005],

soprattutto quelle difficilmente visualizzabili all'ecografia transfontanellare come PWML, GMH-IVH di grado I e micro-CBH [Cornette 2002, Parodi 2015, Parodi 2015]. Inoltre, la risonanza magnetica permette di eseguire, in maniera semplice, riproducibile e affidabile, misurazioni lineari delle varie strutture cerebrali, che correlano con le più sofisticate tecniche di volumetria cerebrale [Kidokoro 2013, Kidokoro 2014].

La sequenza pesata in suscettibilità magnetica (Susceptibility-Weighted Imaging, SWI), sviluppata di recente, è altamente sensibile a depositi emosiderinici, permettendo di diagnosticare con alta precisione emorragie anche di basso grado [Sehgal 2005, Haacke 2009]. Studi precedenti hanno inoltre evidenziato che la sequenza SWI permette di differenziare due sottotipi di lesioni puntate, dividendole in quelle emorragico-petecchiali e pertanto visibili come aree di basso segnale (SWI+ PWML, **Figura 8**) e quelle senza depositi emosiderinici e pertanto non visibili in SWI (SWI- PWML) [Rutherford 2010, Niwa 2011]

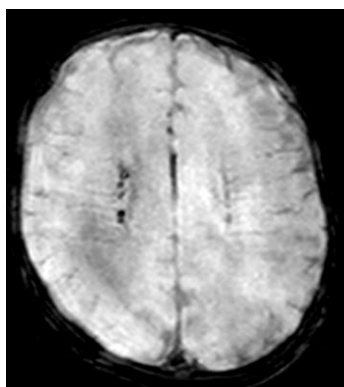


Figura 8. PWML SWI+ visibili come piccole puntiformi aree di basso segnale alla sequenza SWI.

La caratterizzazione delle lesioni puntate sulla base di visibilità in SWI può avere importanza clinica, in quanto potrebbe spiegare l'outcome eterogeneo collegato a queste lesioni [Kersbergen 2014].

Valutazione dell'outcome neurocognitivo

Visto l'alto rischio di complicanze neurologiche anche a lungo termine tra i bambini VLBW, la valutazione standardizzata di sviluppo viene proposta nella maggior parte dei servizi di follow-up. Tra i diversi strumenti, quello più comunemente utilizzato è la scala Griffiths (GMDS, Griffiths Mental Developmental Scales) [Griffith 2006], una batteria di test per la valutazione standardizzata dello sviluppo neurologico. La scala aiuta a valutare punti di forza e di debolezza del bambino in diverse aree di sviluppo e permette di individuare i pazienti che necessitano di essere inclusi in un programma di riabilitazione specifico.

La variante 0-2 anni valuta cinque diverse aree di sviluppo:

- Scala A, locomotoria. Valuta le capacità motorie, inclusa la capacità di coordinare e controllare i movimenti.
- Scala B, personale-sociale. Misura l'efficienza nelle attività di ogni giorno, il livello di indipendenza e l'interazione con altri bambini.
- Scala C, coordinazione udito-linguaggio. Valuta l'udito, il linguaggio ricettivo ed espressivo.
- Scala D, coordinazione occhio-mano. Si focalizza sulle capacità motorie fini, la destrosità manuale e le capacità visivo-motorie.
- Scala E, performance. Valuta le qualità di esecuzione dei compiti semplici, inclusa la velocità e la precisione di lavoro.

La variante 2-8 anni include inoltre la scala F, dedicata al ragionamento pratico. Essa misura la capacità di bambino di risolvere problemi pratici, capire concetti matematici di base e comprendere problemi morali.

Per ogni compito all'interno del test al bambino viene assegnato 1 punto, e i numeri grezzi vengono successivamente convertiti in coefficienti di sviluppo

standardizzato (DQ, development quotients): uno per ogni scala e poi un altro per il DQ globale. I numeri risultanti possono così essere utilizzati per valutare il livello di sviluppo neuromotorio e neurocognitivo, con valori sotto 70 definiti come patologici, valori da 70 a 84 come borderline, e valori da 85 in su come normali.

Obiettivi dello studio

Prima parte

- 1) Identificare i fattori di rischio clinici per lo sviluppo delle diverse tipologie di lesioni puntate di sostanza bianca nei bambini VLBW;
- 2) Identificare le differenze tra lesioni puntate di sostanza bianca visibili e non visibili in sequenza SWI (SWI+ PWML vs SWI- PWML) in termini di caratteristiche anatomiche ed outcome neurologico a due anni.

Seconda parte

- 1) Definire la tipologia e la frequenza delle alterazioni di sostanza bianca nei pazienti VLBW in confronto ad altre lesioni cerebrali tipiche della prematurità;
- 2) Valutare l'influenza di lesioni cerebrali e di parametri lineari di crescita cerebrale con l'outcome neurologico a tre anni di età.

Pazienti e metodi

Popolazione dello studio

Nella prima parte dello studio sono stati retrospettivamente identificati tutti pazienti VLBW (peso alla nascita inferiore a 1500 gr) ricoverati presso la U.O. Terapia Intensiva Neonatale e Patologia Neonatale dell'Istituto G. Gaslini di Genova dal gennaio 2012 all'agosto 2016; nella seconda parte dello studio la popolazione è stata ampliata aggiungendo pazienti ricoverati fino a settembre 2017. I pazienti che sono stati sottoposti alla risonanza magnetica (RM) cerebrale come parte del programma routinario di screening all'età corretta del termine (TEA, term-equivalent age, tra 37 e 42 settimane di età corretta) sono stati selezionati e inclusi nello studio. Nel nostro reparto, a partire dal 2012 la RM cerebrale al TEA fa parte del protocollo di screening neuroradiologico applicato a tutti i neonati VLBW, popolazione nota per essere ad alto rischio di lesioni cerebrali con conseguenze neurologiche a lungo termine. Nonostante ciò non tutti i pazienti ricoverati appartenenti alla categoria VLBW sono stati sottoposti al RM cerebrale, per ragioni cliniche (e.g. instabilità clinica persistente o morte) o logistiche (e.g. trasferimento precoce presso altro ospedale o non disponibilità degli slot temporali per l'esecuzione dell'esame): questi pazienti non sono stati inclusi nello studio.

Raccolta dei dati

I dati demografici e clinici dei pazienti inclusi nello studio sono stati raccolti a partire dal database elettronico del reparto e dalle cartelle cliniche. Per ogni paziente sono stati raccolti dati demografici (genere, peso ed età gestazionale alla nascita), dati prenatali (gravidanza multipla, utilizzo di tecnologie di riproduzione assistita, diabete gestazionale, ipertensione gestazionale, metrorragia e/o distacco placentare, rottura

prematura delle membrane, ritardo di accrescimento intrauterino, profilassi steroidea prenatale), dati perinatali (tipologia di parto, valori Apgar a 1 e 5 minuti), dati postnatali (necessità di intubazione, necessità e durata di ventilazione meccanica, utilizzo del surfattante, pneumotorace nelle prime 72 ore di vita, utilizzo di inotropi nelle prime 72 ore di vita, sepsi precoce (EOS, early onset sepsis – batteriemia o meningite batterica nelle prime 72 ore di vita), sepsi tardiva (LOS, late onset sepsis – peggioramento delle condizioni cliniche dopo le primi 72 ore di vita che ha richiesto avvio di terapia antibiotica) diviso in categorie sulla base di rialzo di PCR, LOS con batteriemia, LOS con pleiocitosi liquorale, LOS con coltura liquorale positiva, perforazione intestinale spontanea (SIP, spontaneous intestinal perforation), enterocolite necrotizzante (NEC, necrotising enterocolitis), trattamento chirurgico per NEC, trattamento farmacologico per pervietà di dotto di Botallo (PDA, patent ductus arteriosus), trattamento chirurgico per PDA, broncodisplasia polmonare (BPD, bronchopulmonary dysplasia – necessità di ossigeno a 36 settimane di età corretta), retinopatia di prematurità (ROP, retinopathy of prematurity), ROP trattata con laser terapia, presenza di GMH-IVH, PVL e CBH sulla risonanza magnetica cerebrale.

Risonanza magnetica

La risonanza magnetica cerebrale è stata eseguita all'età corretta del termine (TEA, term-equivalent age, tra 37 e 42 settimane di età corretta) durante il sonno spontaneo usando tecnica “feed and wrap” [Ibrahim 2015]. In caso di artefatti da movimento eccessivi durante la prima sequenza si procedeva, previa acquisizione di consenso informato specifico, a sedazione orale con midazolam a dosaggio di 0,1 mcg/kg. È stata utilizzata tripla protezione acustica e monitoraggio non-invasivo continuo di saturazione di ossigeno e di frequenza cardiaca. Gli esami sono stati

effettuati con un sistema dotato di magneti di campo 1,5 Tesla (Intera Achieva; Philips, Best, Olanda) utilizzando la bobina pediatrica dedicata. Il protocollo prevedeva sequenze assiali pesate in T1 e T2 (spessore 3 mm), sequenza coronale pesata in T2, sequenza sagittale pesata in T1, sequenza DWI (diffusion-weighted imaging) assiale (b value: 1000 s/mm²) e sequenza SWI (Susceptibility-Weighted Imaging) assiale. I parametri utilizzati per la sequenza SWI erano i seguenti: TR/TE, 33/48 ms; flip angle, 15°; FOV, 120×120 mm; dimensione della matrice 152×137; tempo di acquisizione totale 2 m 57 s.

Per la prima parte del lavoro, le immagini di risonanza magnetica dei pazienti inclusi sono state revisionate per identificare pazienti con lesioni puntate della sostanza bianca (PWML) definite come aree puntiformi di alterazione del segnale iperintense in sequenza T1 e/o ipointense in sequenza T2 nella sostanza bianca periventricolare. È stato annotato il numero di lesioni per singolo paziente (da 1 a 6 o più di 6). Le lesioni sono state caratterizzate sulla base di visibilità in sequenza SWI: in presenza di riduzione di segnale (“puntino nero”), corrispondente al deposito emosiderinico, la lesione è stata definita come SWI+, invece in assenza di riduzione di segnale – come SWI- [Niwa 2011].

La posizione di ogni lesione è stata definita come anteriore, mediale o posteriore, secondo la definizione presente in letteratura [Cornette 2002]:

- anteriore: anteriormente al corno frontale dei ventricoli laterali
- mediale: lateralmente ai ventricoli laterali, nel centrum semiovale
- posteriore: posteriormente al corno occipitale dei ventricoli laterali

Ogni lesione è stata inoltre caratterizzata dal pattern che formava con le lesioni vicine (adattato da Cornette 2002 e Kersbergen 2014 – **Figura 9**):

- lineare: lesioni multiple disposte in sequenza lungo una linea

- a grappolo: lesioni raccolte in gruppo, assumendo una forma rotondeggiante
- lesione singola: senza altre lesioni in vicinanza

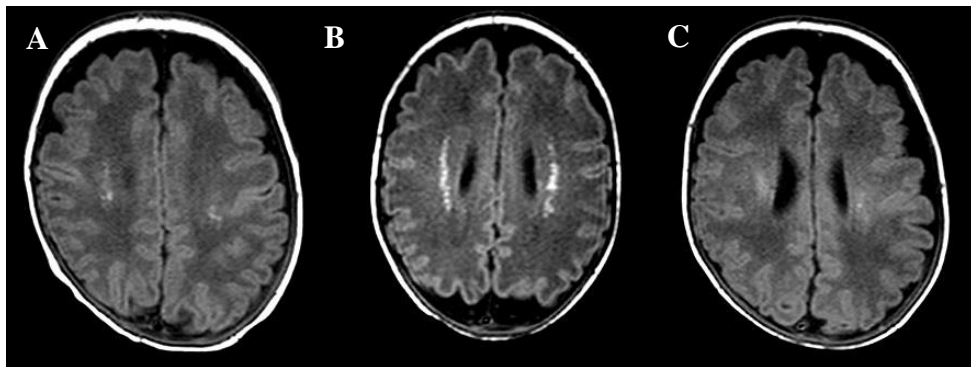


Figura 9. Diversi pattern di PWML: a grappolo (A), lineare (B), a lesione singola (C).

La distanza di ogni lesione puntata dal ventricolo laterale è stata misurata nelle scansioni assiale (T1 o T2, sulla base di maggior visibilità) e coronale (T2) usando strumento “misura” di visualizzatore PACS (Carestream Vue Motion, Carestream Health, Inc. 2018). La distanza è stata misurata come linea retta perpendicolare alla parete del ventricolo laterale (**Figura 10**).

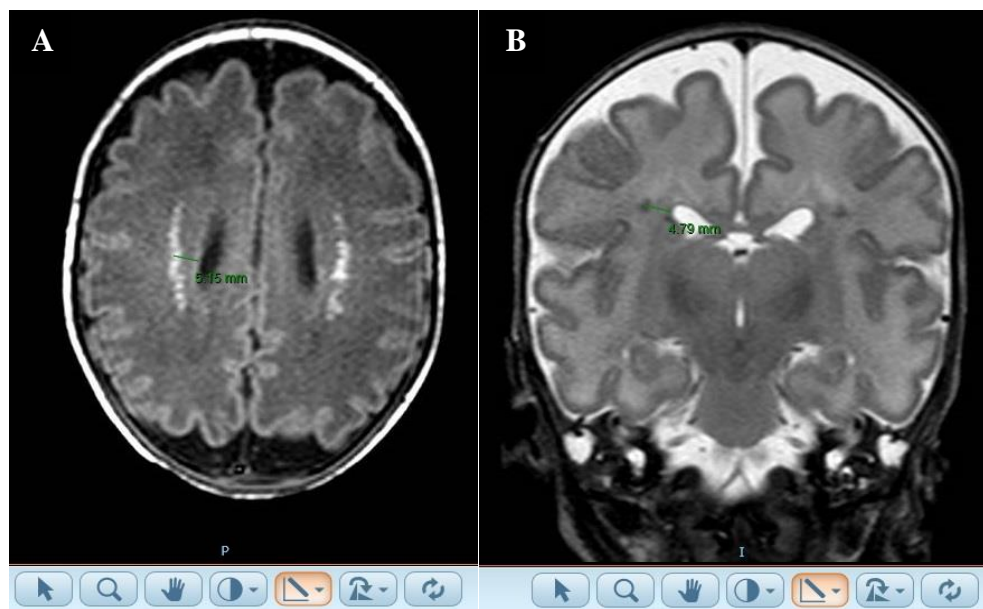


Figura 10. Misurazione della distanza tra la PWML e parete del ventricolo laterale nella scansione assiale T1 (A) e coronale T2 (B).

Per la seconda parte del lavoro sono state revisionate le immagini di risonanza magnetica classificando le lesioni cerebrali connesse con la prematurità secondo la tipologia e gravità, con score da 1 a 3.

Lesioni della sostanza bianca (Figura 11)

- *Grado 1*: PWML SWI+ oppure PWML SWI- situate posteriormente alla linea che divide i ventricoli laterali in metà anteriore e posteriore (adattato da Cayam-Rand 2019);
- *Grado 2*: PWML SWI- situate anche anteriormente alla linea che divide i ventricoli laterali in metà anteriore e posteriore;
- *Grado 3*: Leucomalacia periventricolare cistica.

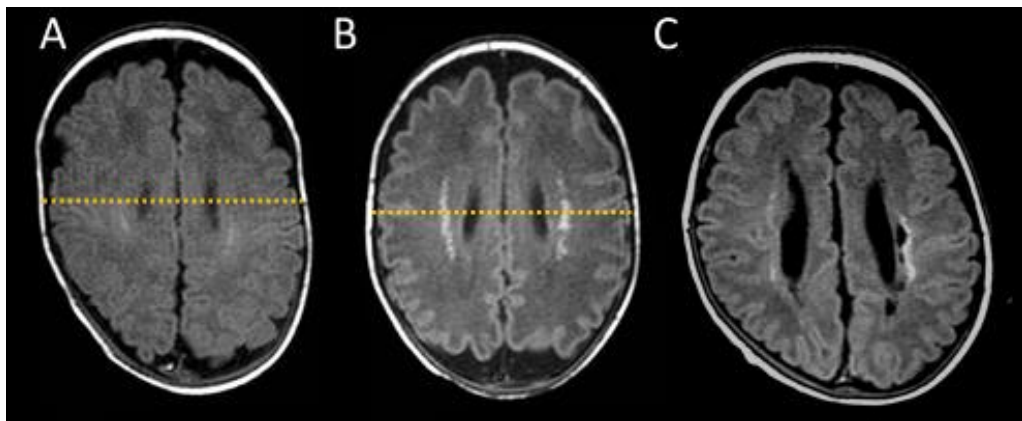


Figura 11. Tre gradi di lesioni di sostanza bianca nelle sequenze T1 assiali. A: Grado 1, lesioni puntate che non superano la linea di metà ventricolo; B: Grado 2, lesioni puntate situati anche anteriormente alla linea di metà ventricolo; C: Grado 3, leucomalacia periventricolare cistica.

Emorragia intraventricolare da sanguinamento della matrice germinativa (Figura 12)

- *Grado 1*: Presenza di residui di emosiderina come visualizzato da sequenza SWI a livello di matrice germinativa e/o a livello ventricolare, senza dilatazione ventricolare persistente (diametro dei ventricoli laterali ≤ 10 mm);
- *Grado 2*: Come precedente, ma con segni di dilatazione ventricolare persistente (diametro dei ventricoli laterali > 10 mm) e/o segni di drenaggio ventricolare;

- *Grado 3*: Presenza di residui di emosiderina come visualizzato da sequenza SWI a livello di matrice germinativa e/o a livello ventricolare associati ad infarto periventricolare post-emorragico.

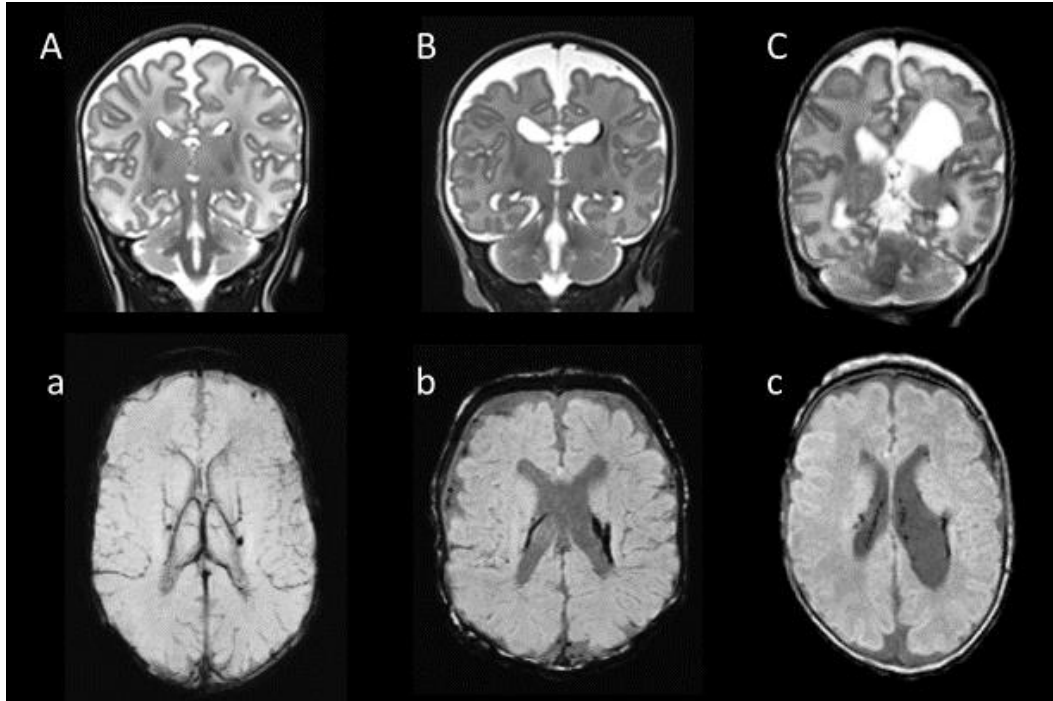


Figura 12. Tre gradi di emorragia intraventricolare da sanguinamento di matrice germinativa nelle sequenze T2 coronali (lettere maiuscole) e SWI assiali (lettere minuscole). A, a: Grado 1, si nota la presenza di residuo emosiderinico nella zona di matrice germinativa; B, b: Grado 2, si nota anche la dilatazione ventricolare; C, c: Grado 3, è visibile la porencefalia da infarto periventricolare post-emorragico a sinistra.

Emorragia cerebellare (Figura 13)

- *Grado 1*: emorragia cerebellare puntiforme di dimensioni inferiori a 5 mm;
- *Grado 2*: emorragia cerebellare limitata, superiore a 5 mm in diametro ma inferiore a 1/3 del cervelletto;
- *Grado 3*: emorragia cerebellare massiva coinvolgente più di 1/3 del cervelletto.

[Parodi 2015]

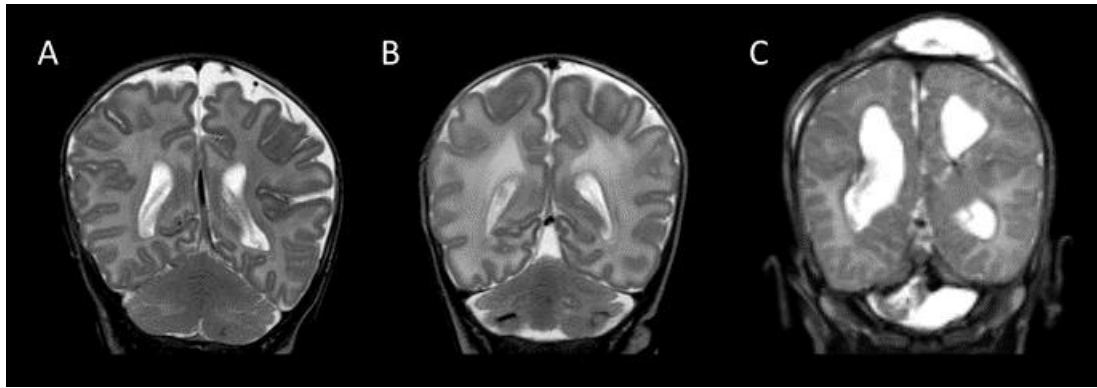


Figura 13. Tre gradi di emorragia cerebellare nelle sequenze T2 coronali. A: Grado 1, emorragia puntiforme nell'emisfero cerebellare sinistro; B: Grado 2, emorragie limitate bilaterali; C: Grado 3, emorragia cerebellare massiva che comporta distruzione di maggior parte di parenchima cerebellare.

Sono state inoltre eseguite misurazioni di parametri lineari caratterizzanti dimensioni delle strutture cerebrali e spazi subaracnoidei (Figura 14) [Kidokoro 2013]:

- diametro biparietale (BPW, biparietal width)
- distanza interemisferica (IHD, interhemispheric distance)
- diametro trans-cerebellare (TCD, transcerebellar diameter)
- diametri ventricolari destro e sinistro (R-VD e L-VD, right and left ventricular diameters)

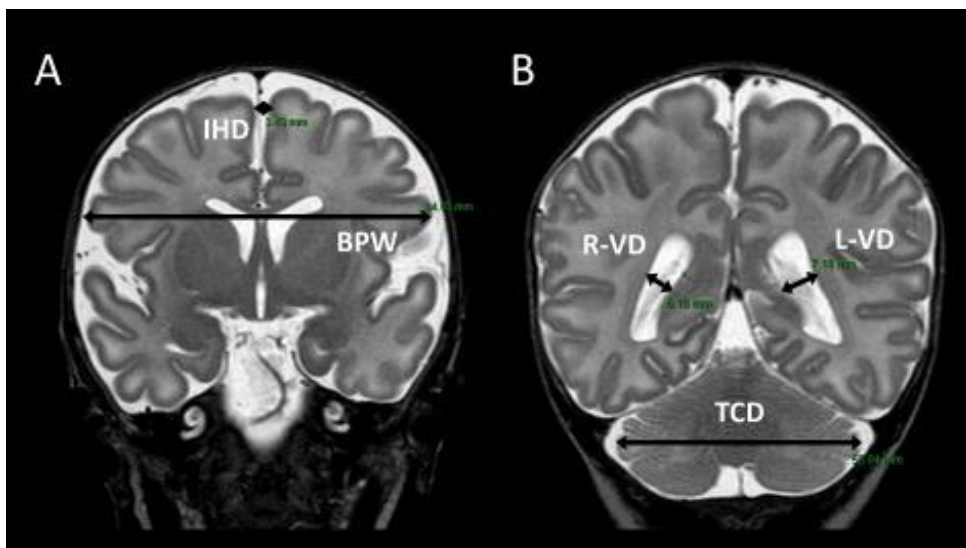


Figura 14. Misure lineari cerebrali. BPW e IHD sono misurati nella sezione coronale T2 utilizzando coclea e tronco basilare come punti di riferimento, mentre TCD, R-VD e L-VD sono misurati nella sezione coronale T2 a livello dell'atrio ventricolare.

Follow-up

La valutazione dello sviluppo psicomotorio dei pazienti inclusi nello studio è stata effettuata con le scale Griffiths (GMDS, Griffiths Mental Developmental Scales) [Griffith 2006] a 2 anni di età corretta (prima parte dello studio) e a 3 anni di età cronologica (seconda parte dello studio). Queste valutazioni facevano parte del servizio di follow-up proposto a tutti i pazienti VLBW dimessi dal nostro reparto. Le scale sono state somministrate dal singolo operatore esperto che non era a conoscenza dei risultati della risonanza magnetica. I numeri ottenuti sono stati convertiti nei coefficienti standardizzati (DQ, development quotient): DQ totale relativo a sviluppo globale, scala A – a capacità motorie, scala B – a caratteristiche personale-sociali, scala C – a coordinazione udito-linguaggio, scala D – a coordinazione occhio-mano, scala E – a performance, e, per la versione somministrata a tre anni, anche scala F, relativa a ragionamento pratico. I valori sotto 70 sono stati definiti come patologici, quelli da 70 a 84 come borderline, mentre i valori da 85 in su come normali. Ai pazienti troppo compromessi per poter essere valutati con scala Griffiths veniva assegnato il valore di DQ pari a 50.

Analisi dei dati

L'analisi statistica è stata effettuata mediante software SPSS for Windows (SPSS Inc, Chicago, Illinois USA).

La prima parte del lavoro è stata dedicata totalmente alle lesioni puntate della sostanza bianca. Per tutta la coorte sono state generate statistiche descrittive e i dati erano espressi come media e deviazione standard (SD) per variabili continue, invece per le variabili categoriche sono state calcolate le frequenze relative e assolute. È stata eseguita l'analisi univariata per determinare quali dei parametri demografici e clinici

erano significativamente associati con il rischio di sviluppare PWML, SWI+ PWML, SWI- PWML e più di 6 PWML. Differenze fra i gruppi sono state valutate con Student t test per le variabili continue e con χ^2 o Fisher's exact test per variabili categoriche. È stata quindi eseguita l'analisi multivariata, includendo nel modello solo variabili risultate significative o borderline ($p < 0.08$) all'analisi univariata. È stata effettuata l'analisi di regressione logistica e i risultati sono stati espressi come odds ratio (OR) con intervallo di confidenza del 95% (CI). Nel modello finale il valore di $p < 0.05$ era considerato statisticamente significativo.

Per analizzare le differenze anatomiche tra lesioni puntate visibili e non visibili in SWI abbiamo eseguito l'analisi dei dati prendendo in considerazione ogni lesione singolarmente. Abbiamo valutato la differenza tra le due tipologie di lesioni in distanza media dal ventricolo laterale, localizzazione sul piano assiale (anteriore, medio o posteriore) e pattern di organizzazione (lineare, a grappolo o lesione singola). Le differenze fra i gruppi sono state valutate con Student t test per le variabili continue e con χ^2 o Fisher's exact test per variabili categoriche. Anche per questa analisi il valore di $p < 0.05$ era considerato statisticamente significativo.

Infine, per analizzare influenza di PWML isolate sul outcome neurologico dei pazienti VLBW a due anni di età abbiamo selezionato tre gruppi di pazienti:

1. pazienti senza lesioni cerebrali connessi con prematurità
2. pazienti con PWML SWI+ isolate
3. pazienti con PWML SWI- isolate

Per ogni paziente sono stati considerati valori DQ della scala Griffiths a 2 anni di età: totale e 5 sottoscale. Sono state prodotte statistiche descrittive e i risultati sono stati espressi come media e deviazione standard (SD). È stata eseguita l'analisi multivariata comparando valori medi tra i tre gruppi, correggendo per età gestazionale

alla nascita. Il limite per la significatività statistica era fissato a $p < 0.05$ ed è stata applicata correzione di Bonferroni per comparazioni multiple.

Nella seconda parte dello studio ci siamo concentrati sul confronto tra le lesioni di sostanza bianca di diverso grado e altre lesioni tipiche della prematurità. Sono state calcolate frequenze assolute e relative di lesioni di sostanza bianca, così come di emorragia intraventricolare da sanguinamento della matrice germinativa (GMH-IVH) e di emorragia cerebellare (CBH).

Per valutare il significato prognostico delle lesioni i pazienti sono stati divisi in gruppi sulla base di tipologia e grado più alto (da 0 a 3) delle lesioni cerebrali presentate. I pazienti che presentavano due lesioni diverse dello stesso grado venivano inclusi in entrambi i gruppi. Per ogni gruppo sono stati calcolati valori medi di DQ (totale e 6 sottoscale) alla scala Griffiths a 3 anni di età. Utilizzando Student t test sono stati eseguiti confronti tra gruppi di pazienti con ogni singolo grado di lesione e pazienti senza lesioni; sono inoltre stati confrontati tra di loro gruppi di pazienti con diverso grado di lesioni di sostanza bianca.

È stata eseguita l'analisi multivariata per tre gradi di lesioni di sostanza bianca come possibile fattore di rischio per DQ totale patologico a tre anni di età, correggendo per età gestazionale, BPD e ROP grave. I risultati sono stati espressi come odds ratio (OR) con loro intervallo di confidenza di 95% (CI).

Infine, sono state esplorate possibili correlazioni tra le misure cerebrali lineari (BPW, TCD) e valori di DQ totale.

Il limite per la significatività statistica per tutti i calcoli era fissato a $p < 0.05$.

Risultati

Prima parte

Da gennaio 2012 ad agosto 2016, 373 neonati con un peso inferiore a 1500 gr (VLBW) sono stati ricoverati nel reparto di Patologia e Terapia Intensiva Neonatale di IRCSS Istituto Giannina Gaslini. Di loro, 38 sono deceduti, mentre in 14 casi la risonanza magnetica non era eseguita per ragioni logistiche o scelta della famiglia. La popolazione di studio includeva quindi 321 paziente VLBW con RM cerebrale eseguita all'età corretta del termine. L'età gestazionale variava da 23 a 34 settimane (media 28.3 ± 2.3) e il peso alla nascita da 435 a 1495 g (media 1052 ± 265). Rapporto tra femmine e maschi era 1.2, con 23% di bambini nati con parto vaginale e 37% che provenivano da gravidanze gemellari.

Le PWML si sono registrate nel 19% (61/321) dei neonati VLBW, in 26 casi (8% della popolazione o 43% di pazienti con PWML) le lesioni erano numerose (più di 6 per paziente). In 15 casi (4.7% di popolazione o 25% di pazienti con PWML) le lesioni erano visibili in sequenza SWI, suggerendo l'origine emorragico-petecchiale (PWML SWI+), mentre i rimanenti 46 pazienti presentavano lesioni SWI negative (PWML SWI-).

Fattori di rischio per le PWML

All'analisi univariata, le PWML erano più frequenti nel gruppo dei pazienti con peso più alto alla nascita ($p=0.004$), genere maschile ($p=0.04$), profilassi steroidea prenatale assente o incompleta ($p=0.07$) e valore di Apgar più alto a 1 ($p=0.01$) e 5 ($p=0.005$) minuti. L'ipertensione materna era meno frequente tra pazienti con le PWML ($p=0.06$) (**Tabella 1**).

Tabella 1. Analisi univariata dei fattori di rischio per PWML

	<i>Popolazione intera (N=321)</i>	<i>PWML (N=61)</i>	<i>no PWML (N=260)</i>	<i>p</i>
Peso alla nascita (gr), media±SD	1052±265	1139±223	1031±270	0.004
Età gestazionale (settimane), media±SD	28.3±2.3	28.4±1.8	28.3±2.3	0.71
Apgar al 1° min, media±SD	5.5±2.1	6.1±1.6	5.4±2.1	0.01
Apgar al 5° min, media±SD	7.7±1.3	8.1±0.8	7.6±1.3	0.005
Genere maschile (%)	146 (45.5)	35 (57.4)	111 (42.7)	0.04
Gestazione multipla (%)	118 (36.8)	25 (41)	84 (37.3)	0.66
Tecnologie di riproduzione assistita (%)	68 (21.2)	13 (21.3)	55 (21.2)	1
Ritardo di accrescimento intrauterine (%)	76 (23.7)	11 (18)	65 (25)	0.32
Profilassi steroidea assente o incompleta (%)	81 (25.2)	21 (34.4)	60 (23.1)	0.07
Diabete gestazionale (%)	14 (4.4)	2 (3.3)	12 (4.6)	1
Ipertensione materna (%)	59 (18.4)	6 (9.8)	53 (20.4)	0.06
Emorragia/distacco placentare (%)	51 (15.9)	9 (14.8)	42 (16.2)	1
Rottura premature delle membrane (%)	89 (27.7)	18 (29.5)	71 (27.3)	0.75
Taglio cesareo (%)	246 (76.6)	43 (70.5)	203 (78.1)	0.24
Intubazione (%)	241 (75.1)	51 (83.6)	190 (73.1)	0.10
Intubazione nelle prime 72 h (%)	233 (72.6)	49 (80.3)	184 (70.8)	0.15
VM > 2 h (%)	194 (60.4)	40 (65.6)	154 (59.2)	0.39
VM > 2 h durante i primi 72 h (%)	174 (54.2)	34 (55.7)	140 (53.8)	0.89
VM > 7 giorni (%)	86 (26.8)	15 (24.6)	71 (27.3)	0.75
VM > 14 giorni (%)	55 (17.1)	9 (14.8)	46 (17.7)	0.71

VM >28 days (%)	27 (8.4)	4 (6.6)	23 (8.8)	0.80
Surfattante (%)	226 (70.4)	47 (77)	179 (68.8)	0.27
Multipli dosi di surfattante (%)	98 (30.5)	15 (24.6)	83 (31.9)	0.28
Pneumotorace durante i primi 72 h (%)	11 (3.4)	2 (3.3)	9 (3.5)	1
Inotropi durante i primi 72h (%)	28 (8.7)	5 (8.2)	23 (8.8)	1
EOS (%)	11 (3.4)	-	11 (4.2)	0.13
LOS (%)	142 (44.2)	24 (39.3)	118 (45.4)	0.47
LOS >1 episodio (%)	48 (15)	8 (13.1)	40 (15.4)	0.84
LOS con batteriemia (%)	42 (13.1)	6 (9.8)	36 (13.8)	0.52
LOS con pleiocitosi nel liquor (%)	17 (5.3)	1 (1.7)	16 (6.4)	0.21
LOS con coltura liquorale positiva (%)	3 (0.9)	1 (1.7)	2 (0.8)	0.47
LOS con aumento di PCR (%)	92 (28.7)	14 (23)	78 (30)	0.34
SIP (%)	4 (1.2)	2 (3.3)	2 (0.8)	0.16
NEC (%)	21 (6.5)	5 (8.2)	16 (6.2)	0.57
Intervento chirurgico per NEC (%)	11 (3.4)	2 (3.3)	9 (3.5)	1
PDA (%)	196 (61.1)	40 (65.6)	156 (60)	0.47
Intervento chirurgico per PDA (%)	33 (10.3)	6 (9.8)	27 (10.4)	1
Qualsiasi intervento chirurgico (%)	56 (17.4)	13 (21.3)	43 (16.5)	0.36
GMH-IVH (%)	82 (25.5)	18 (29.5)	64 (24.6)	0.42
CBH (%)	53 (16.5)	9 (14.8)	44 (16.9)	0.85

VM: ventilazione meccanica; EOS: sepsi precoce; LOS: sepsi tardiva; SIP: perforazione intestinale spontanea; NEC: enterocolite necrotizzante; PDA: pervietà di dotto di Botallo; GMH-IVH: emorragia intraventricolare da sanguinamento di matrice germinativa; CBH: emorragia cerebellare.

Nell'analisi multivariata, abbiamo osservato che la profilassi steroidea assente o incompleta (OR=2.13 (1.13-4); $P=0.02$) e il peso alla nascita più alto (OR=1.001 (1-1002); $P=0.04$) erano associati significativamente a PWML (**Tabella 2**).

Tabella 2. Analisi multivariata dei fattori di rischio per PWML, >6 PWML, SWI+PWML and SWI- PWML

Fattori di rischio per PWML	PWML (N=61)	no PWML (N=260)	OR (95%CI)	p
Profilassi steroidea assente o incompleta	21 (34.4%)	60 (23.1%)	2.13 (1.13-4)	0.02
Peso alla nascita	1139±223	1031±270	1.001 (1-1002)	0.04
Fattori di rischio per > 6 PWML	>6 PWML (N=26)	no >6 PWML (N=295)	OR (95%CI)	p
Taglio cesareo	14 (53.8%)	232 (78.6%)	0.22 (0.09-0.55)	0.001
Intubazione	24 (92.3)	217 (73.6)	11.9 (2.35-60)	0.003
Peso alla nascita	1185±163	1040±269	1.003 (1.001-1005)	0.003
Apgar a 5 minuti	8.1±0.8	7.6±1.3	1.8 (1.12-2.91)	0.02
Profilassi steroidea assente o incompleta	12 (46.2%)	69 (23.4%)	2.53 (1.01-6.33)	0.05
Fattori di rischio per SWI+PWML	SWI+ PWML (N=15)	no SWI+PWML (N=306)	OR (95%CI)	p
GMH-IVH	10 (66.7)	72 (23.5)	6.5 (2.15-19.6)	0.001
Fattori di rischio per SWI- PWML	SWI- PWML (N=46)	no SWI- PWML (N=275)	OR (95%CI)	p
Peso alla nascita	1203±180	1026±268	1.003 (1.002 -1.004)	0.001

GMH-IVH: emorragia intraventricolare da sanguinamento di matrice germinativa; OR: odds ratio; CI: intervallo di confidenza

All'analisi univariata, i fattori clinici associati alla presenza di più di 6 PWML erano il peso più alto alla nascita ($p=0.008$), i valori di Apgar più alti a 5 minuti ($p=0.05$), la profilassi steroidea assente o incompleta ($p=0.02$) e la necessità di intubazione ($p=0.003$). La nascita da parto cesareo ($p=0.007$) e dosi multiple di surfattante ($p=0.03$) erano meno frequenti tra i pazienti con $PWML>6$. L'analisi multivariata (**Tabella 2**) ha dimostrato che i fattori di rischio più importanti per $PWML>6$ erano la necessità di intubazione (OR=11.9 (2.35-60); $p=0.003$), i valori di Apgar più alti a 5 minuti (OR=1.8 (1.12-2,91); $p=0.02$), il peso più alto alla nascita (OR=1.003 (1.001-1.005), $p=0.03$), e la profilassi steroidea assente o incompleta

(OR=2.53 (1.01-6,33), $p=0.05$); mentre la nascita da taglio cesareo risultava protettiva (OR=0.22 (0.09-0.55); $p=0.001$).

I fattori di rischio clinici più frequenti nei pazienti con SWI+ PWML all'analisi univariata erano un qualsiasi intervento chirurgico ($p=0.03$) e la presenza di GMH-IVH ($p=0.001$) e CBH ($p=0.02$) al RM encefalo all'età corretta del termine. In analisi multivariata, abbiamo osservato come unico fattore rimanente significativo sia stato la presenza di GMH-IVH (OR 6.5, 95% CI 2.15-19.6, $P=0.001$) (**Tabella 2**).

I pazienti con PWML SWI- all'analisi univariata avevano peso alla nascita più alto ($p=0.001$) e valori di Apgar a 1 ($p=0.03$) e 5 ($p=0.01$) minuti più alti. All'analisi multivariata, peso alla nascita più alto era l'unico fattore significativo (OR 1.003, 95% CI 1.002-1.004, $P=0.0001$) (**Tabella 2**).

Abbiamo osservato più alta prevalenza di PWML nei pazienti VLBW con età gestazionale alla nascita superiore a 28 settimane, in confronto ai pazienti nati prima (22.4% vs 12.6%, $p<0.05$). Questa differenza si accentuava se si prendeva in considerazione solo pazienti con SWI- PWML (18.6% vs 6,3%, $p<0.005$, **Tabella 3**).

Tabella 3. Prevalenza di PWML, SWI+ PWML and SWI- PWML tra i pazienti VLBW con l'età gestazionale inferiore a 28 settimane e da 28 settimane in su

	<28 settimane (N=111)	≥28 settimane (N=210)	<i>p</i>
Any PWML	14 (12.6%)	47 (22.4%)	<0.05
PWML SWI+	7 (6.3%)	8 (3.8%)	ns
PWML SWI-	7 (6.3%)	39 (18.6%)	<0.005

PWML: lesioni puntate della sostanza bianca; SWI: susceptibility weighted imaging;

Differenze tra le SWI+ PWML e SWI- PWML

Successivamente abbiamo voluto confrontare tra di loro lesioni puntate SWI+ e SWI. Per fare ciò, abbiamo considerato ogni lesione puntata in maniera separata. Nei

61 pazienti con lesioni puntate abbiamo osservato un totale di 373 PWML, delle quali 42 (11.3%) erano visibili in sequenza SWI (SWI+), mentre 331 (88.7%) non presentavano segnale SWI alterato (SWI-). L'età gestazionale e il peso alla nascita medi erano più bassi nel gruppo di SWI+ PWML, rispetto al gruppo SWI- PWML (Tabella 4).

Tabella 4. Caratteristiche cliniche e anatomiche di SWI+ e SWI- PWML

	<i>SWI+ PWML</i> (N=42)	<i>SWI- PWML</i> (N=331)	<i>p</i>
Peso alla nascita (gr), media ± SD	907.0±193,5	1214.8±155.2	<0.001
Età gestazionale (sett), media ± SD	27.1±1,7	28.9±1.6	<0.001
Distanza dal ventricolo			
Piano coronale (mm), media ± SD	3.0±1,7	4.8±1.7	<0.001
Piano assiale (mm), media ± SD	3.7±1,4	5.3±2.2	<0.001
Distribuzione sul piano assiale			
Anteriore	3 (7.1%)	7 (2.1%)	
Mediale	26 (61.9%)	301 (90.9%)	<0.001
Posteriore	13 (31%)	23 (7%)	
Pattern di organizzazione			
Lineare	26 (61.9%)	213 (64.3%)	
A grappolo	7 (16.7%)	72 (21.8%)	0.38
Lesione singola	9 (21.4%)	46 (13.9%)	

PWML: lesioni puntate di sostanza bianca; SWI: susceptibility-weighted imaging

Considerando la posizione anatomica, le lesioni SWI+ erano situate significativamente più vicino al bordo del ventricolo laterale, rispetto alle lesioni SWI, sia sul piano coronale che quello assiale (Tabella 4).

Sul piano assiale, sia SWI+ PWML che SWI- PWML erano situate prevalentemente nella zona mediale, anche se lesioni SWI+ avevano una distribuzione più omogenea (Tabella 4). Per quanto riguarda pattern di organizzazione, non

abbiamo osservato differenze significative tra SWI+ PWML e SWI- PWML (**Tabella 4**).

Dei 321 pazienti inclusi nello studio, 197 hanno completato valutazione con scala Griffiths a 2 anni di età corretta. Di loro, 62 presentavano lesioni cerebrali diverse da PWML e venivano quindi esclusi, mentre 105 avevano risonanza normale, 25 avevano lesioni puntate isolate SWI- e altri 5 – lesioni puntate isolate SWI+. Il confronto tra i pazienti con lesioni puntate isolate e i pazienti con imaging normale ha dimostrato valori medi di coefficiente di sviluppo (DQ) alla scala D (coordinazione occhio-mano) significativamente più bassi nei pazienti con SWI+ PWML isolati rispetto ai pazienti con imaging normale (**Tabella 5**).

Tabella 5. Valori medi di Griffiths score a due anni di età corretta nei pazienti con imaging normale e con due tipologie di PWML isolate.

	<i>Normal imaging (N=105)</i>	<i>PWML SWI+ (N=5)</i>	<i>p</i>	<i>Normal Imaging (N=105)</i>	<i>PWML SWI- (N=25)</i>	<i>p</i>
Global DQ	92.8±11.7	82.4±19.0	ns	92.8±11.7	92.0±9.8	ns
DQ scale A	92.7±14.1	83.4±19.1	ns	92.7±14.1	89.9±14.0	ns
DQ scale B	91.5±13.7	85.2±22.4	ns	91.5±13.7	92.9±11.5	ns
DQ scale C	85.1±15.2	76.6±15.5	ns	85.1±15.2	83.8±14.5	ns
DQ scale D	99.0±13.3	83.6±21.2	<0.05	99.0±13.3	100.8±9.8	ns
DQ scale E	94.9±13.6	86.2±23.6	ns	94.9±13.6	93.5±11.2	ns

Seconda parte

Per la seconda parte del lavoro la popolazione studiata nella prima parte è stata ampliata aggiungendo bambini ricoverati presso reparto di Terapia Intensiva Neonatale di IRCSS Istituto Giannina Gaslini da settembre 2016 a settembre 2017. In questo periodo sono stati ricoverati 100 neonati VLBW, di cui 9 sono deceduti e in 4

casi la risonanza magnetica cerebrale non è stata eseguita per ragioni logistiche. Gli 87 pazienti risultanti sono stati aggiunti alla popolazione, che consisteva quindi di 408 pazienti con risonanza magnetica cerebrale eseguita all'età corretta del termine. L'età gestazionale nella risultante popolazione variava da 23 a 34 settimane (media 28.4 ± 2.2) e il peso alla nascita da 435 a 1495 g (media 1066 ± 263). Rapporto maschi/femmine era 0.89, il 23% di bambini sono nati con parto vaginale e 36% provenivano da gravidanze gemellari.

Lesioni cerebrali connesse con la prematurità

Dall'analisi dei dati nella seconda parte dello studio è emerso che 187 su 408 pazienti (46% di tutti i VLBW) presentavano almeno una lesione cerebrale alla risonanza magnetica, mentre 37 su 408 (9%) presentavano lesioni gravi (grado 3). La lesione più frequente era l'emorragia intraventricolare da sanguinamento della matrice germinativa (113 pazienti pari al 28% della popolazione: 74 pazienti con lesioni di grado 1, 15 con grado 2 e 24 con grado 3), seguita da lesioni della sostanza bianca (86 pazienti pari al 21% della popolazione: 53 pazienti con lesioni di grado 1, 20 con grado 2 e 13 con grado 3), ed infine dall'emorragia cerebellare (70 pazienti pari al 17% della popolazione: 48 pazienti con lesioni di grado 1, 18 con grado 2 e 4 con grado 3).

Sessantotto pazienti, pari a 17% della popolazione, presentavano più di una lesione: l'associazione più frequente era l'emorragia intraventricolare da sanguinamento della matrice germinativa ed emorragia cerebellare (33 pazienti), seguita da emorragia intraventricolare da sanguinamento della matrice germinativa e lesioni di sostanza bianca (19 pazienti), mentre solo due pazienti presentavano l'associazione tra lesioni di sostanza bianca ed emorragia cerebellare. Quattordici pazienti presentavano tutte e tre tipologie di lesioni.

Outcome neurologico a tre anni di età

Duecento settantasei pazienti hanno completato il follow-up all'età di tre anni. Non sono state osservate differenze significative di età gestazionale, presenza di lesioni cerebrali di qualsiasi natura o di lesioni cerebrali gravi tra pazienti con e senza follow-up a tre anni.

Tra i pazienti seguiti, 53 (19.2%) presentavano valori patologici (sotto 70) di coefficiente di sviluppo (DQ) totale alle scale Griffiths, 69 pazienti (25%) avevano valori borderline (70-84) e 154 (55.8%) presentavano valori normali (da 85 in su). La presenza di lesioni cerebrali, anche di basso grado, comportava la diminuzione dei valori medi dei coefficienti di sviluppo ottenuti alla scala Griffiths rispetto ai bambini che non hanno presentato alcuna lesione cerebrale (**Tabella 6**). Questa diminuzione risultava statisticamente significativa per tutti i gradi e le tipologie di lesioni tranne che per l'emorragia intraventricolare di grado 2.

Abbiamo inoltre osservato differenze significative nell'outcome locomotorio, espresso come valore medio di DQ al sottoscala A di Griffiths, in modo progressivo tra i pazienti con tre gradi di lesioni della sostanza bianca (**Tabella 7**).

All'analisi multivariata (corretta per età gestazionale, presenza di broncodisplasia polmonare e retinopatia di prematurità grave), la presenza di lesioni di sostanza bianca di grado 2 e 3 risultavano un fattore di rischio significativo per coefficiente di sviluppo patologico a 3 anni di età (**Tabella 8**).

Per quanto riguarda le misure lineari, i valori medi per la popolazione erano 79.5 ± 5.0 mm per il diametro biparietale (biparietal width, BPW), 3.0 ± 1.5 mm per la distanza interemisferica, 51.2 ± 5.4 mm per il diametro transcerebellare (transcerebellar diameter, TCD), 5.9 ± 3.1 mm per il diametro ventricolare destro e 6.1 ± 4.2 mm per il diametro ventricolare sinistro. Abbiamo osservato correlazione positiva tra valori di DQ totale a 3 anni e BPW ($r=0.18$, $p=0.0057$), così come TCD ($r=0.27$, $p<0.001$).

Prendendo in considerazione solo pazienti senza lesioni cerebrali queste correlazioni non erano più statisticamente significative.

Tabella 6. Valori medi di coefficienti di sviluppo (DQ) ottenuti nella scala Griffiths a tre anni di età nei pazienti con diversi tipologie e gradi di lesioni.

	N	DQ Totale (media±SD)	Scala A (media±SD)	Scala B (media±SD)	Scala C (media±SD)	Scala D (media±SD)	Scala E (media±SD)	Scala F (media±SD)
Emorragia intraventricolare								
Grado 3	15	69.6±18.8*	67.6±16.6*	70.4±20.1*	68.4±18.0*	72.3±20.7*	70.7±22.3*	68.6±18.3*
Grado 2	8	83.9±26.2	80.6±26.3	85.6±23.6	84.6±27.0	81.8±25.1	82.9±28.9	83.1±27.9
Grado 1	40	81.6±12.5**	83.5±14.0 ⁺	85.6±13.1	77.0±13.8 ⁺	83.6±14.3 ⁺	81.1±13.4 ⁺	82.2±16.1 ⁺
Lesioni di sostanza bianca								
Grado 3	8	61.0±16.1*	54.9±5.9*	64.1±19.5*	65.6±19.4**	63.1±20.7*	60.3±19.0*	63.0±20.0*
Grado 2	8	71.8±11.3*	64.5±10.9*	71.4±11.1*	70.9±16.0 ⁺	75.8±16.3 ⁺	70.8±12.4*	73.0±15.5 ⁺
Grado 1	36	83.4±14.8 ⁺	84.9±15.6	85.0±15.4 ⁺	81.2±16.4	86.6±14.9	83.8±16.9	83.6±17.1
Emorragia cerebellare								
Grado 3	2	65.0±21.2 ⁺	65.0±21.2 ⁺	65.0±21.2 ⁺	65.0±21.2	65.0±21.2 ⁺	65.0±21.2 ⁺	65.0±21.2 ⁺
Grado 2	11	72.5±17.4*	75.1±19.8**	76.2±17.2**	70.8±22.3 ⁺	77.0±17.0 ⁺	70.3±14.5*	70.6±19.1*
Grado 1	29	79.5±15.0*	79.4±17.3*	83.1±16.3 ⁺	76.9±15.3 ⁺	81.4±14.6 ⁺	78.2±14.7 ⁺	81.4±18.6 ⁺
Assenza di lesioni cerebrali	147	88.2±12.1	89.5±13.8	90.3±13.6	84.7±15.9	90.1±12.6	86.6±13.0	89.6±13.8

N=276; 28 pazienti avevano lesioni cerebrali di tipologia diversa dello stesso grado e sono stati contati due volte.

*p<.001, **p<.005, +p<.05 vs pazienti senza lesioni cerebrali.

Tabella 7. Valori medi di coefficienti di sviluppo (DQ) ottenuti nella scala Griffiths a tre anni di età nei pazienti con diversi gradi di lesioni di sostanza bianca in confronto tra di loro.

	Grado 1, n=36 (media±SD)	Grado 2, n=8 (media±SD)	Grado 3, n=8 (media±SD)	Grado 1 vs grado 2 (valore p)	Grado 2 vs grado 3 (valore p)	Grado 1 vs grado 3 (valore p)
DQ Totale	83.4±14.8	71.8±11.3	61.0±16.1	.04	.14	.0005
Scala A	84.9±15.6	64.5±10.9	54.9±5.9	.0011	.045	.00003

Tabella 8. Analisi multivariata delle lesioni di sostanza bianca come possibile fattore di rischio per valori patologici di DQ alla scala Griffiths a tre anni di età.

	OR (95% CI)	Valore p*
Lesioni di sostanza bianca		
Grado 1	2.40 (0.79; 7.32)	0.12
Grado 2	9.74 (1.86; 50.94)	0.007
Grado 3	50.40 (7.26; 631)	0.0001

*corretto per età gestazionale, presenza di broncodisplasia polmonare e retinopatia di prematurità grave

Discussione

Nella prima parte del lavoro abbiamo identificato i fattori di rischio per lesioni puntate di sostanza bianca visibili alla risonanza magnetica eseguita all'età corretta del termine (TEA, term-equivalent age) in una ampia coorte di bambini VLBW. Tra più di 50 parametri clinici analizzati (inclusi variabili demografici, prenatali, perinatali e post-natali), solo due sono risultati fattori di rischio significativi per PWML: (1) peso più alto alla nascita, e (2) profilassi steroidea prenatale assente o incompleta [Parodi 2019]. L'assenza di associazione significativa tra altri potenziali fattori di rischio e lo sviluppo di PWML è in linea con i lavori precedenti. Wagenaar *et al* hanno identificato solo tre fattori di rischio significativi per le lesioni puntate alla RM encefalo eseguita precocemente: peso alla nascita più alto, IVH di grado II-III e l'appartenenza alla coorte A [Wagenaar 2017]. D'altro canto, Leijser e colleghi non hanno evidenziato nessun fattore di rischio significativo per le PWML al RM eseguito al TEA [Leijser 2009]. Anche se in letteratura è stata riportata l'associazione tra infiammazione sistemica e danno di sostanza bianca [Shah 2008, Volpe 2011], noi non abbiamo osservato correlazioni tra eventi grossolanamente definibili come infiammatori/infettivi (*e.g.* EOS, LOS, NEC, e pleiocitosi liquorale) e lo sviluppo di PWML.

Il peso più alto alla nascita, come fattore di rischio per PWML, potrebbe essere visto come una approssimazione della crescente maturità cerebrale del bambino. Wagenaar *et al* hanno dimostrato che il peso alla nascita più elevato è un fattore di rischio per PWML [Wagenaar 2017]. In maniera simile, Leijser *et al* hanno osservato la tendenza verso il peso alla nascita più alto nei bambini con PWML multipli [Leijser 2009]. In un recente lavoro sulle conseguenze neurologiche delle PWML che

coinvolgeva 506 bambini prematuri, sia un peso più alto alla nascita che un'età gestazionale più alta erano osservati nel gruppo di pazienti con lesioni [Tusor 2017].

Abbiamo osservato una prevalenza più alta delle PWML nei pazienti con età gestazionale da 28 settimane in su, soprattutto quando venivano presi in considerazione solo lesioni non-emorragiche (SWI- PWML). In maniera simile, il rischio più alto per il danno cistico di sostanza bianca nei neonati prematuri (PVL cistica) era presente nei nati con età gestazionale più alta [de Vries 1988]. È stato suggerito che le PWML possano presentare simile distribuzione nelle varie età gestazionali [Rutherford 2010], ed i nostri dati sembrano confermare questa ipotesi. In letteratura, questa specifica fragilità della sostanza bianca in un determinato periodo di tempo era collegata alla finestra di maggior vulnerabilità nello sviluppo di oligodendrociti [Back 2001] che coincide con il periodo di maggior attivazione di microglia [Buser 2012]. In più, la frequenza più alta di PWML nelle età gestazionali più alte potrebbe dipendere dalla più consistente astrogliosi che sappiamo caratterizzare il danno non-cistico della sostanza bianca osservato in bambini più maturi [Verney 2012].

Appare interessante la nostra osservazione di una correlazione tra profilassi steroidea assente o incompleta e lo sviluppo di PWML. Questa osservazione differisce dai lavori pubblicati precedentemente [Leijser 2009, Wagenaar 2017, Tusor 2017]. È noto come gli steroidi antenatali inducano una migliore maturazione polmonare con associata una diminuita mortalità perinatale e neonatale, sindrome da distress respiratorio, necessità di ventilazione meccanica, NEC e IVH [Roberts 2017]. Mentre effetti positivi degli steroidi prenatali sull'emorragia intraventricolare sono stati confermati da diversi studi [Linder 2003, Chawla 2013], l'associazione con il danno di sostanza bianca rimane controverso [O'Shea 2001]. Pensiamo che i nostri dati

abbiano evidenziato un fattore di rischio semplice e modificabile dalle pratiche mediche, corroborando l'importanza e ed il ruolo protettivo della profilassi steroidea. In altre parole, è possibile che la corretta esecuzione della profilassi steroidea prenatale possa proteggere lo sviluppo cerebrale dei prematuri dall'insorgenza delle PWML.

Circa un quarto (15/61) dei pazienti con PWML nel nostro studio presentavano lesioni ipointense in SWI, compatibili con una origine emorragica/petecchiale. Il rischio di sviluppare SWI+ PWML era sei volte più alto nei pazienti con GMH-IVH, corroborando l'ipotesi della loro patogenesi venosa, come suggerito in letteratura [Niwa 2011, Kersbergen 2014]. Il preciso meccanismo fisiopatologico che determina l'insorgenza delle SWI+ PWML non è ancora noto, ma possiamo speculare che la microtrombosi a livello delle vene della sostanza bianca periventricolare possa avere un ruolo fondamentale, come viene suggerito anche per GMH-IVH [Ghazi-Birry 1997, Arrigoni 2011, Ramenghi 2011, Tortora 2018].

Analizzando differenze anatomiche tra SWI+ PWML e SWI- PWML, abbiamo osservato che le lesioni SWI+ erano situate significativamente più vicine alla parete ventricolare, confermando ulteriormente la loro possibile connessione con vene congeste [Rutherford 2010]. D'altro canto, SWI- PWML si trovavano nelle zone più distanti dalla parete ventricolare, dove spesso si determina la leucomalacia periventricolare [Leech and Alvord 1974]. Per quanto riguarda invece la distribuzione sul piano assiale, lesioni SWI+ erano distribuite più uniformemente rispetto alle PWML SWI-, suggerendo un diverso substrato fisiopatologico di queste due tipologie di lesioni.

Dal punto di vista clinico, SWI+ PWML erano associate all'età gestazionale e peso alla nascita più basse, rispetto a PWML SWI-. Questa differenza potrebbe essere conseguenza della alta vulnerabilità del cervello estremamente prematuro a sviluppare

lesioni emorragiche [Sannia 2013], incluse le forme SWI+ delle PWML. Per quanto riguarda invece il follow-up psicomotorio, abbiamo osservato che la presenza di SWI+ PWML isolate era associata alla diminuzione di DQ alla scala D, corrispondente ad una peggiore coordinazione occhio-mano a due anni di età. Questo risultato sembra essere in accordo con l'osservazione di un peggior outcome locomotorio, di coordinazione occhio-mano e di performance a 2 anni di età corretta in pazienti con alterazioni di sostanza bianca conseguenti a GMH-IVH di basso grado [Tortora 2018], suggerendo ancora una volta similitudine tra SWI+ PWML con altre lesioni emorragiche della prematurità [Bolisetty 2014].

Dall'analisi dei dati nella seconda parte dello studio è emerso che un'alta percentuale di bambini (46% di tutti i VLBW) presentava almeno una lesione cerebrale alla risonanza magnetica eseguita all'età corretta del termine. Questa percentuale risulta più alta rispetto a quanto riportato in altri studi simili (33% nello studio eseguito da Kidokoro et al [Kidokoro 2014] e 25% nello studio condotto da Neubauer e colleghi [Neubauer 2017]), ma è sostenuta sostanzialmente da lesioni emorragiche di basso grado visibile con la tecnica SWI, non utilizzata in quegli studi. In effetti, la prevalenza delle lesioni gravi nella nostra popolazione è molto simile agli studi citati: 9% in nostro studio vs 10% in [Kidokoro 2014] e 6% in [Neubauer 2017]. La possibile causa di questa differenza è la maggiore sensibilità dei protocolli utilizzati presso il nostro centro verso le emorragie cerebrali (GMH-IVH e CBH) di basso grado. La sequenza SWI, altamente sensibile ai depositi emosiderinici, rappresenta il “gold standard” nella diagnosi di lesioni emorragiche cerebrali, ma non sempre fa parte dei protocolli utilizzati in ambito neonatale [Parodi 2015, Parodi 2015].

Al momento attuale non esiste, in letteratura, una univoca opinione sulla possibile influenza di lesioni emorragiche di basso grado sullo sviluppo neurologico.

Alcuni studi hanno evidenziato una influenza negativa di emorragia intraventricolare lieve all'outcome neurologico, mentre altri non trovano differenze significative con gruppi di controllo [Pino-Martin 1999, Sherlock 2005, Patra 2006, Klebermass-Schrehof 2012]. Visto che la maggior parte di questi studi si basa sulla diagnosi ecografica, caratterizzata da bassa sensibilità verso lesioni più piccole è possibile che tale discrepanza sia dovuta al bias nel reclutamento: i pazienti con emorragie di basso grado potevano essere inclusi, inavvertitamente, tra i controlli [Parodi 2015]. Lo stesso sembra vero per le emorragie cerebellari di basso grado, la cui prognosi è poco conosciuta [Tam 2011, Steggerda 2013, Boswinkel 2019].

Nel nostro lavoro, sia emorragia intraventricolare che emorragia cerebellare di basso grado hanno avuto un'influenza negativa sui risultati di scala Griffiths a tre anni di età. Più di un meccanismo fisiopatologico potrebbe essere coinvolto in questo processo. Lavori sperimentali suggeriscono che un danno della matrice germinativa potrebbe alterare lo sviluppo della corteccia cerebrale [Gressens 1992]; è stato inoltre dimostrato che anche la GMH-IVH non complicata si associa a una riduzione di volume della sostanza grigia all'età corretta del termine [Vasileiadis 2004]. D'altro canto, anche piccole quantità di prodotti di degradazione emoglobinica sembrano essere in grado di alterare la proliferazione e differenziazione dei precursori di oligodendrociti [Juliet 2009], e potrebbero danneggiare la sostanza bianca tramite attivazione di microglia [Supramaniam 2013]. In effetti, il nostro gruppo ha osservato cambiamenti microstrutturali della sostanza bianca, legati al peggioramento di outcome neurologico all'età di 2 anni, nei pazienti con GMH-IVH di basso grado [Tortora 2018], che potrebbero dipendere anche dal passaggio transependimale di sangue, dall'interno del ventricolo nella sostanza bianca periventricolare. Infine, anche la perfusione della sostanza grigia corticale e profonda sembra essere alterata nei

pazienti con GMH-IVH di basso grado [Tortora 2020], suggerendo un ulteriore possibile meccanismo di perturbazione di un normale sviluppo cerebrale. Per quanto riguarda l'emorragia cerebellare, è noto come i depositi emosiderinici influenzano negativamente lo sviluppo del cervelletto, principalmente danneggiandone la corteccia, probabilmente mediante danno da radicali liberi [Volpe 2009, Boswinkel 2019].

Le lesioni della sostanza bianca erano presenti nel 21% della nostra popolazione: la maggior parte dei pazienti era affetta da lesioni puntate di sostanza bianca (PWML di grado 1 e 2), mentre solo il 3% presentava leucomalacia periventricolare (grado 3). La letteratura recente ha dimostrato come lesioni puntate di sostanza bianca situate anteriormente fossero collegate all'outcome neurologico sfavorevole, dato che sembra confermato dal presente lavoro [Guo 2017, Cayam-Rand 2019]. In effetti, anche se tutti e tre gradi delle lesioni della sostanza bianca erano associati alla riduzione significativa di valori medi di DQ alla scala Griffiths, solo quelli di grado 2 e 3 (cioè, lesioni puntate SWI- che superavano anteriormente la linea di metà ventricolo e leucomalacia periventricolare) risultavano fattori di rischio significativi per DQ patologico all'analisi multivariata, con OR di 9.7 per grado 2 e di 50.4 per grado 3.

Abbiamo osservato correlazione positiva tra le misure lineari caratterizzanti crescita cerebrale (diametro biparietale, BPW, e diametro trans-cerebellare, TCD) e sviluppo psicomotorio a tre anni di età. Risultati simili sono stati osservati da altri autori: Kidokoro et al ha evidenziato ritardo nel sviluppo cognitivo nei pazienti pretermine con crescita cerebrale alterata espressa con diametro biparietale (BPW) diminuito [Kidokoro 2014], mentre Dewan et al hanno osservato correlazioni tra BPW e indice di sviluppo psicomotorio, così come tra dimensioni del cervelletto (TCD,

trans-cerebellar diameter) e indice di sviluppo mentale e indice di sviluppo psicomotorio a 2 anni di età corretta [Dewan 2019]. Altri autori ancora hanno osservato che anche in assenza di lesioni cerebrali, la riduzione sia di dimensioni cerebellari che di diametro biparietale fosse associata a riduzione di indice di sviluppo mentale a 2 anni di età corretta [Hammerl 2020, Hammerl 2020]. Nella nostra popolazione, diversamente, queste associazioni non erano più significative quando venivano esclusi pazienti con lesioni cerebrali.

Le limitazioni del nostro studio risiedono nel suo carattere retrospettivo e nella elevata specificità della popolazione studiata (pazienti VLBW), per cui l'estensione dei risultati ad altri gruppi di pazienti con diverse età gestazionali potrebbe non essere percorribile. Questo è un fattore importante in quanto le lesioni puntate di sostanza bianca, l'argomento principale della prima parte del nostro lavoro, possono essere riscontrate in tutte le età gestazionali, raramente anche nei neonati a termine [Rutherford 2010] ed in quelli con cardiopatie congenite importanti. L'utilizzo di risonanza magnetica all'età corretta del termine limita la nostra capacità diagnostica, in quanto alcune lesioni cerebrali potrebbero scomparire prima, come una parte di lesioni puntate di natura non emorragico-petecchiale [Kersbergen 2014].

Tra i punti di forza invece, possiamo nominare la vasta popolazione di pazienti con omogenee strategie di trattamento, di imaging e di follow-up. In più, la disponibilità di sequenza SWI per tutte le risonanze magnetiche ci ha permesso sia di identificare con precisione lesioni emorragiche di basso grado, che di differenziare chiaramente due tipologie di lesioni puntate, SWI+ PWML e SWI- PWML a partire dalle prime risonanze eseguite nel 2012. Infine, il follow-up eseguito con scale Griffiths a 3 anni di età si correla maggiormente con outcome a lungo termine rispetto alla valutazione a 2 anni, quella più frequentemente utilizzata negli studi simili.

Conclusioni

In conclusione, in una vasta popolazione di nati pretermine con peso molto basso alla nascita abbiamo osservato una alta percentuale (46%) di pazienti con lesioni cerebrali visibili in risonanza magnetica all'età corretta del termine. Le lesioni, anche quelle di basso grado, avevano influenza negativa sull'outcome psicomotorio a tre anni di età, sottolineando l'importanza di poter elaborare precoci strategie riabilitanti. Abbiamo identificato la profilassi steroidea assente o incompleta come fattore di rischio modificabile per lo sviluppo di lesioni puntate di sostanza bianca (PWML), e abbiamo descritto in dettaglio le differenze tra due tipologie di PWML. La prima tipologia, visibile in SWI, corrisponde probabilmente a piccole emorragie petecchiali con alterazione localizzata di mielinizzazione della sostanza bianca. Le SWI+ PWML, che rappresentano circa un quarto di tutte le PWML, sono associate ad una età gestazionale e ad un peso più bassi alla nascita, e alla presenza di emorragia intraventricolare a partenza dalla matrice germinativa. Queste lesioni sono situate più vicine alla parete del ventricolo rispetto alle PWML SWI- e la loro presenza, anche in forma isolata, era associata a peggiore coordinazione occhio-mano a due anni di età. La seconda tipologia di PWML, senza presenza di emosiderina, corrisponde probabilmente ad aree di gliosi locale dovuta all'attivazione della cascata infiammatoria e conseguente alterazione della mielinizzazione. Le PWML SWI- sono la tipologia più frequente di lesioni puntate di sostanza bianca e possono essere considerate una forma minore di leucomalacia periventricolare. Nel nostro studio erano situate più lontanamente dalla parete ventricolare, soprattutto nella zona periventricolare mediale, ed erano associate all'età gestazionale e peso alla nascita maggiori.

Secondo i nostri dati, la risonanza magnetica eseguita all'età corretta del termine può avere un ruolo importante nel verificare la presenza e la tipologia delle lesioni cerebrali, per identificare al meglio pazienti più a rischio di outcome sfavorevoli ed indirizzarli così, in base alla necessità, ad auspicabili programmi di stimolazioni aumentative, abilitanti o riabilitanti.

Bibliografia

- Ancel PY, Goffinet F, the EPIPAGE-2 Writing Group. Epipage survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011 results of the EPIPAGE-2 Cohort Study. *JAMA Pediatr.* 2015;169:230–238.
- Arrigoni F, Parazzini C, Righini A, et al. Deep medullary vein involvement in neonates with brain damage: an MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2011 Dec;32(11):2030-6.
- Back SA, Luo NL, Borenstein NS, et al. Late Oligodendrocyte Progenitors Coincide with the Developmental Window of Vulnerability for Human Perinatal White Matter Injury. *J. Neurosci.* 2001 Febr 15
- Back SA. Perinatal white matter injury: the changing spectrum of pathology and emerging insights into pathogenetic mechanisms. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2006;12(2):129–140.
- Bancker BQ, Larroche JC. Periventricular leukomalacia of infancy. A form of neonatal anoxic encephalopathy. *Arch Neurol.* 1962 Nov;7:386-410.
- Bassi L, Chew A, Merchant N, et al. Diffusion tensor imaging in preterm infants with punctate white matter lesions. *Pediatr Res* 2011;69(6):561–566).
- Benders MJNL, Kersbergen KJ, de Vries LS. Neuroimaging of White Matter Injury, Intraventricular and Cerebellar Hemorrhage. *Clin Perinatol.* 2014 Mar;41(1):69-82.
- Blencowe H, Cousens S, Oestergaard MZ, Chou D, Moller AB, Narwal R, et al. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the

year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet* 2012;379(9832):2162e72

- Bolisetty S, Dhawan A, Abdel-Latif M, et al: New South Wales and Australian Capital Territory Neonatal Intensive Care Units' Data Collection. Intraventricular hemorrhage and neurodevelopmental outcomes in extreme preterm infants. *Pediatrics*. 2014 Jan;133(1):55-62.
- Boswinkel V, Steggerda SJ, Fumagalli M, Parodi A, Ramenghi LA, Groenendaal F, Dudink J, Benders MN, Knol R, de Vries LS, van Wezel-Meijler G. The CHOPIn Study: a Multicenter Study on Cerebellar Hemorrhage and Outcome in Preterm Infants. *Cerebellum*. 2019 Dec;18(6):989-998.
- Buser JR, Maire J, Riddle A, et al. Arrested preoligodendrocyte maturation contributes to myelination failure in premature infants. *Ann Neurol*. 2012 Jan;71(1):93-109.
- Cayam-Rand D, Guo T, Grunau RE, Benavente-Fernández I, Synnes A, Chau V, Branson H, Latal B, McQuillen P, Miller SP. Predicting developmental outcomes in preterm infants: A simple white matter injury imaging rule. *Neurology*. 2019 Sep 24;93(13):e1231-e1240.
- Chawla S, Bapat R, Pappas A, et al. Neurodevelopmental outcome of extremely premature infants exposed to incomplete, no or complete antenatal steroids. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013 Oct;26(15):1542-7
- Childs AM, Cornette L, Ramenghi LA, et al. Magnetic resonance and cranial ultrasound characteristics of periventricular white matter abnormalities in newborn infants. *Clin Radiol* 2001;56:647–55.

- Cornette LG, Tanner SF, Ramenghi LA. Magnetic resonance imaging of the infant brain: anatomical characteristics and clinical significance of punctate lesions, *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002 May;86(3):F171-7.
- de Bruïne FT, van den Berg-Huysmans AA, Leijser LM, et al. Clinical implications of MR imaging findings in the white matter in very preterm infants: a 2-year follow-up study. *Radiology* 2011;261(3): 899–906.
- Deng W, Wang H, Rosenberg PA, et al. Role of metabotropic glutamate receptors in oligodendrocytes excitotoxicity and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:7751–6.
- de Vries LS, Regev R, Dubowitz LM, et al. Perinatal risk factors for the development of extensive cystic leukomalacia. *Am J Dis Child.* 1988; 142(7): 732-5.
- de Vries LS, Groenendaal F, Meiners LC. Ischemic lesions in the preterm brain. In *MRI of the Neonatal Brain: Periventricular leukomalacia*, 1st ed., edited by Rutherford, M. WB Saunders, Philadelphia, PA, 2002; pp. 155-164.
- de Vries LS, Van Haastert IL, Rademaker KJ, et al. Ultrasound abnormalities preceding cerebral palsy in high-risk preterm infants. *J Pediatr* 2004;144:815–20
- Dewan MV, Herrmann R, Schweiger B, Sirin S, Müller H, Storbeck T, Dransfeld F, Felderhoff-Müser U, Hüning B. Are Simple Magnetic Resonance Imaging Biomarkers Predictive of Neurodevelopmental Outcome at Two Years in Very Preterm Infants? *Neonatology.* 2019;116(4):331-340.
- Eichenwald EC, Stark AR. Management and outcomes of very low Birth weight. *N Engl J Med.* 2008;358(16):1700–11.

- Evans DJ, Childs AM, Ramenghi LA, Arthur RJ, Levene MI. Magnetic-resonance imaging of the brain of premature infants. *Lancet*. 1997 Aug 16;350(9076):522.
- Fazzi E, Orcesi S, Caffi L, et al. Neurodevelopmental outcome at 5-7 years in preterm infants with periventricular leukomalacia. *Neuropediatrics* 1994;25(3):134–139.
- Ghazi-Birry HS, Brown WR, Moody DM, et al. Human germinal matrix: venous origin of hemorrhage and vascular characteristics. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1997 Feb;18(2):219-29.
- Gressens P, Richelme C, Kadhim HJ, Gadisseux JF, Evrard P. The germinative zone produces the most cortical astrocytes after neuronal migration in the developing mammalian brain. *Biol Neonate* 1992;62:4-24.
- Griffith R, GMDS-Griffiths Mental Developmental Scales. 2006; Ed. Hogrefe Ltd.
- Guo T, Duerden EG, Adams E, et al. Quantitative assessment of white matter injury in preterm neonates: association with outcomes. *Neurology*. 2017 Feb 14;88(7):614-622.
- Haacke EM, Mittal S, Wu Z, Neelavalli J, Cheng YC. Susceptibility-weighted imaging: technical aspects and clinical applications, part 1. *Am J Neuroradiol*. 2009;30:19-30.
- Hammerl M, Zagler M, Griesmaier E, Janjic T, Gizewski ER, Kiechl-Kohlendorfer U, Neubauer V. Reduced Cerebellar Size at Term-Equivalent Age Is Related to a 17% Lower Mental Developmental Index in Very Preterm Infants without Brain Injury. *Neonatology*. 2020;117(1):57-64.

- Hammerl M, Zagler M, Zimmermann M, Griesmaier E, Janjic T, Gizewski ER, Kiechl-Kohlendorfer U, Neubauer V. Supratentorial Brain Metrics Predict Neurodevelopmental Outcome in Very Preterm Infants without Brain Injury at Age 2 Years. *Neonatology*. 2020;117(3):287-293.
- Hamrick SE, Miller SP, Leonard C, et al. Trends in severe brain injury and neurodevelopmental outcome in premature newborn infants: the role of cystic periventricular leukomalacia. *J Pediatr*. 2004 Nov;145(5):593-9.
- Ibrahim T, Few K, Greenwood R, et al. 'Feed and wrap' or sedate and immobilise for neonatal brain MRI? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2015 Sep;100(5):F465-6.
- Juliet PA, Frost EE, Balasubramaniam J, Del Bigio MR. Toxic effect of blood components on perinatal rat subventricular zone cells and oligodendrocyte precursor cell proliferation, differentiation and migration in culture. *J Neurochem*. 2009; 109: 1285–1299
- Kersbergen KJ, Benders MJ, Groenendaal F, et al. Different patterns of punctate white matter lesions in serially scanned preterm infants. *PLoS ONE* 2014;9(10):e108904).
- Kidokoro H, Neil JJ, Inder TE. New MR imaging assessment tool to define brain abnormalities in very preterm infants at term. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013 Nov-Dec;34(11):2208-14.
- Kidokoro H, Anderson PJ, Doyle LW, Woodward LJ, Neil JJ, Inder TE. Brain injury and altered brain growth in preterm infants: predictors and prognosis. *Pediatrics*. 2014 Aug;134(2):e444-53.
- Khwaja O, Volpe JJ. Pathogenesis of cerebral white matter injury of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008;93:F153–61.

- Klebermass-Schrehof K, Czaba C, Olischar M, Fuiko R, Waldhoer T, Rona Z, et al. Impact of low-grade intraventricular hemorrhage on long-term neurodevelopmental outcome in preterm infants. *Childs Nerv Syst.* 2012;28:2085-92.
- Leech RW, Alvord Jr EC. Morphologic variations in periventricular leukomalacia. *Am J Pathol.* 1974; 74(3):591-602.
- Leijser LM, Steggerda SJ, de Bruïne FT, et al. Brain imaging findings in very preterm infants throughout the neonatal period: part II. Relation with perinatal clinical data. *Early Hum Dev.* 2009 Feb;85(2):111-5.
- Linder N, Haskin O, Levit O, et al. Risk factors for intraventricular hemorrhage in very low birth weight premature infants: a retrospective case-control study. *Pediatrics.* 2003 May;111(5 Pt 1):e590-5.
- Neubauer V, Djurdjevic T, Griesmaier E, Biermayr M, Gizewski ER, Kiechl-Kohlendorfer U. Routine Magnetic Resonance Imaging at Term-Equivalent Age Detects Brain Injury in 25% of a Contemporary Cohort of Very Preterm Infants. *PLoS One.* 2017 Jan 3;12(1):e0169442.
- Niwa T et al. Punctate white matter lesions in infants: new insights using susceptibility-weighted imaging. *Neuroradiology.* 2011; 53:669–679.
- Papile LA, Burstein J, Burstein R. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr.* 1978 Apr;92(4):529-34.
- Panet N, Rudelli R, Kazam E, Monte W. The pathology of germinal matrix/intraventricular hemorrhage: a review. In: Panet N, Rudelli R, Kazam E, Monte W (eds) *Brain Damage in the Preterm Infant.* London: Mac Keith - Cambridge University Press, 1994.

- Parodi A, Rossi A, Severino M, Morana G, Sannia A, Calevo MG, Malova M, Ramenghi LA. Accuracy of ultrasound in assessing cerebellar haemorrhages in very low birthweight babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015 Jul;100(4):F289-92.
- Parodi A, Morana G, Severino MS, Malova M, Natalizia AR, Sannia A, Rossi A, Ramenghi LA. Low-grade intraventricular hemorrhage: is ultrasound good enough? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Nov;28 Suppl 1:2261-4.
- Parodi A, Malova M, Cardiello V, Raffa S, Re M, Calevo MG, Severino M, Tortora D, Morana G, Rossi A, Ramenghi LA. Punctate white matter lesions of preterm infants: Risk factor analysis. *Eur J Paediatr Neurol.* 2019 Sep;23(5):733-739.
- Patel AB, de Graaf RA, Mason GF, et al. The contribution of GABA to glutamate/glutamine cycling and energy metabolism in the rat cortex in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;15:5588–93.
- Patra K, Wilson-Costello D, Taylor HG, Mercuri-Minich N, Hack M. Grades I-II intraventricular hemorrhage in extremely low birth weight infants: effects on neurodevelopment. *J Pediatr.* 2006;149:169-73.
- Pinto-Martin JA, Whitaker AH, Feldman JF, Van Rossem R, Paneth N. Relation of cranial ultrasound abnormalities in low-birthweight infants to motor or cognitive performance at ages 2, 6, and 9 years. *Dev Med Child Neurol* 1999;41:826-33.
- Ramenghi LA, Mosca F, Counsell S, Rutherford MA. Magnetic Resonance Imaging of the Brain in Preterm Infants. In: Tortori-Donati P, editor. *Pediatric Neuroradiology. Volume 1 (Brain).* 1st ed. Springer; 2005. pp.199-234.

- Ramenghi LA, Fumagalli M, Righini A, et al. Magnetic resonance imaging assessment of brain maturation in preterm neonates with punctate white matter lesions. *Neuroradiology*. 2007;49:161–7.
- Ramenghi LA, Fumagalli M, Groppo M, et al. Germinal matrix hemorrhage: intraventricular hemorrhage in very-low-birth-weight infants: the independent role of inherited thrombophilia. *Stroke*. 2011 Jul;42(7):1889-93.
- Ramenghi LA, Supramaniam V, Fumagalli M, Rutherford M. Brain development and perinatal vulnerability to cerebral damage. In: Buonocore G, et al., eds. *Neonatology. A practical approach to neonatal diseases*. Milan: Springer Italia; 2011:1063–73.
- Ricci D, Anker S, Cowan F, et al. Thalamic atrophy in infants with PVL and cerebral visual impairment, *Early Hum Dev*. 2006 Sep;82(9):591-5.
- Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 21;3:CD004454.
- Ross G, Tesman J, Auld PA, Tesman J, Nass R. Effects of subependymal and mild intraventricular lesions on visual attention and memory in premature infants. *Dev Psychol* 1992;28:1067-74.
- Rutherford MA, Supramaniam V, Ederies A, Magnetic resonance imaging of the white matter disease of the prematurity. *Neuroradiology*. 2010;52: 505-521.
- Sannia A, Natalizia AR, Parodi A, et al. Different gestational ages and changing vulnerability of the premature brain. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015 Nov;28 Suppl 1:2268-72.

- Sehgal V, Delproposto Z, Haacke EM, et al. Clinical applications of neuroimaging with susceptibility-weighted imaging. *J Magn Reson Imaging* 2005;22:439–450.
- Shah DK, Doyle LW, Anderson PJ, et al. Adverse neurodevelopment in preterm infants with postnatal sepsis or necrotizing enterocolitis is mediated by white matter abnormalities on magnetic resonance imaging at term. *J Pediatr*. 2008 Aug;153(2):170-5.
- Sherlock RL, Anderson PJ, Doyle LW; Victorian Infant Collaborative Study Group. Neurodevelopmental sequelae of intraventricular haemorrhage at 8 years of age in a regional cohort of ELBW/very preterm infants. *Early Hum Dev*. 2005;81:909-16.
- Steggerda SJ, Leijser LM, Wiggers-de Bruïne FT, van der Grond J, Walther FJ, van Wezel-Meijler G. Cerebellar injury in preterm infants: incidence and findings on US and MR images. *Radiology*. 2009;252:190-9.
- Steggerda SJ, De Bruine FT, van dB, Rijken M, Leijser LM, Walther FJ, et al. Small cerebellar hemorrhage in preterm infants: perinatal and postnatal factors and outcome. *Cerebellum*. 2013 Dec;12(6):794–801
- Stoll BJ, et al. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010;126:443–456.
- Supramaniam V, Vontell R, Srinivasan L, Wyatt-Ashmead J, Hagberg H, Rutherford M. Microglia activation in the extremely preterm human brain. *Pediatr Res*. 2013; 73:301–309

- Tam EW, Rosenbluth G, Rogers EE, Ferriero DM, Glidden D, Goldstein RB, Glass HC, Piecuch RE, Barkovich AJ. Cerebellar hemorrhage on magnetic resonance imaging in preterm newborns associated with abnormal neurologic outcome. *J Pediatr.* 2011;158:245-50.
- Tolcos M, Petratos S, Hirst JJ, et al. Blocked, delayed, or obstructed: What causes poor white matter development in intrauterine growth restricted infants? *Prog Neurobiol.* 2017 Jul;154:62-77.
- Tortora D, Panara V, Mattei PA, et al. Comparing 3T T1-weighted sequences in identifying hyperintense punctate lesions in preterm neonates. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2015 Mar;36(3):581-6.
- Tortora D, Severino M, Malova M, et al. Differences in subependymal vein anatomy may predispose preterm infants to GMH-IVH. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2018 Jan;103(1):F59-F65.
- Tortora D, Martinetti C, Severino M, et al. The effects of mild germinal matrix-intraventricular haemorrhage on the developmental white matter microstructure of preterm neonates: a DTI study. *Eur Radiol.* 2018 Mar;28(3):1157-1166.
- Tortora D, Lo Russo FM, Severino M, Parodi A, Massirio P, Ramenghi LA, Rossi A. Regional impairment of cortical and deep gray matter perfusion in preterm neonates with low-grade germinal matrix-intraventricular hemorrhage: an ASL study. *Neuroradiology.* 2020 Dec;62(12):1689-1699.
- Tusor N, Benders MJ, Counsell SJ, et al. Punctate white matter lesions associated with altered brain development and adverse motor outcome in preterm infants. *Sci Rep.* 2017 Oct 16;7(1):13250.

- van Haastert IC, Groenendaal F, Uiterwaal CS, et al. Decreasing incidence and severity of cerebral palsy in prematurely born children. *J Pediatr* 2011; 159(1):86–91.
- Vasileiadis GT, Gelman N, Han VK, Williams LA, Mann R, Bureau Y, et al. Uncomplicated intraventricular hemorrhage is followed by reduced cortical volume at near term age. *Pediatrics*. 2004 Sep;114:e367-72.
- Verney C, Pogledic I, Biran V, et al. Microglial reaction in axonal crossroads is a hallmark of noncystic periventricular white matter injury in very preterm infants. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012; 71(3)251-64.
- Volpe JJ. *Neurology of the Newborn* 5th edn, 517–588 (Saunders Elsevier, Philadelphia, PA, 2008).
- Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurol* 2009;8:110–24.
- Volpe JJ. Cerebellum of the premature infant: rapidly developing, vulnerable, clinically important. *J Child Neurol*. 2009;24(9):1085-104.
- Volpe JJ. Systemic inflammation, oligodendroglial maturation, and the encephalopathy of prematurity. *Ann Neurol* 2011;70(4):525–529.
- Volpe JJ, Kinney HC, Jensen FE, et al. The developing oligodendrocyte: key cellular target in brain injury in the premature infant. *Int J Dev Neurosci*. 2011 Jun; 29(4): 423–440.
- Wagenaar N, Chau V, Groenendaal F, et al. Clinical risk factors for punctate white matter lesions on early magnetic resonance imaging in preterm newborns. *J Pediatr*. 2017 Mar;182:34-40.e1.

- Wisnowski JL, Blüml S, Paquette L, et al. Altered glutamatergic metabolism associated with punctate white matter lesions in preterm infants. *PLoS One*. 2013;8(2):e56880.
- Zayek MM, Benjamin JT, Maertens P, Trimm RF, Lal CV, Eyal FG. Cerebellar hemorrhage: a major morbidity in extremely preterm infants. *J Perinatol*. 2012;32(9):699-704