

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE GENERALI E DEI SERVIZI

Ciclo XXVIII°

Settore Concorsuale di afferenza: 06/G1

Settore Scientifico disciplinare: MED/38

***VALUTAZIONE DEL DANNO MIOCARDICO NEL
NEONATO CON ENCEFALOPATIA IPOSSICO-ISCHEMICA***

Presentata da: Dott.ssa Francesca Vitali

Coordinatore Dottorato

Relatore

Prof. Nicola Rizzo

Dott.ssa Silvia Galletti

Esame finale anno 2016

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	2
2. VALUTAZIONE DEL DANNO CARDIACO IN AMBITO NEONATALE.....	3
2.1 Markers biochimici.....	3
2.2 Elettrocardiogramma.....	4
2.3 Ecocardiografia.....	5
3. PROGETTO DI RICERCA.....	8
3.1 Obiettivi dello studio.....	8
3.2 Materiali e Metodi.....	8
3.3 Risultati.....	19
3.4 Discussione.....	29
4. BIBLIOGRAFIA.....	32

1. INTRODUZIONE

L'asfissia perinatale è una delle principali cause di mortalità e morbilità, sia a breve che a lungo termine nel neonato. Ha una prevalenza di 3-4 casi per 1000 nati vivi e spesso associa ad un quadro di encefalopatia ipossico-ischemica (0,5-1 casi su 1000 nati vivi) una disfunzione multiorgano. Fra i neonati che sviluppano un quadro di encefalopatia di grado moderato/severo il 10-60% muore ed almeno il 25% dei sopravvissuti presenta sequele di tipo neurologico (Wei Y *et al.* 2009).

Nel 62-78% dei casi è riportata una disfunzione cardiaca (Shah *et al.* 2004) che può compromettere l'apporto di sangue ad altri organi e portare ad un aggravamento del danno multiorgano e ad un aumento della mortalità (Kanik *et al.* 2009).

Un neonato severamente asfittico infatti, non presenta solo un coinvolgimento neurologico, ma si presenta pallido, poco perfuso e tachicardico; questi segni suggeriscono un coinvolgimento cardiovascolare, che a sua volta contribuisce a peggiorare il danno neurologico postnatale.

Per compensare l'insulto ipossico e continuare a trasportare ossigeno ai tessuti, il flusso di sangue a livello cerebrale, cardiaco e surrenale aumenta in modo variabile a seconda del tipo di danno (Jensen A *et al.* 1999), e si mantiene tale finché non compare bradicardia e il flusso comincia così a diminuire in tutti i distretti portando a disfunzione multiorgano e morte. (Block BS *et al.* 1999).

A livello cellulare, il ridotto apporto di ossigeno determina una riduzione del metabolismo aerobio a favore di quello anaerobio con conseguente riduzione della sintesi di adenosina trifosfato (ATP). A livello del tessuto cardiaco, questa ridotta energia non sarà più in grado di sostenere l'attività contrattile del cuore e, associata all'accumulo di cataboliti tossici, porterà a necrosi cellulare. Inoltre, dopo la ri-perfusione che consegue alla seconda fase di danno ipossico-ischemico, può determinarsi un aumento di radicali liberi dell'ossigeno che possono a loro volta contribuire al danno dei miociti e alla loro morte per apoptosi (Armstrong K *et al.* 2012). Tali alterazioni, analoghe a quelle dell'infarto miocardico acuto nell'adulto, possono portare allo sviluppo di una cardiopatia dilatativa: alla morte cellulare infatti, segue un processo di rimodellamento del tessuto cardiaco caratterizzato da cellule infiammatorie e fibrosi (Armstrong K *et al.* 2012; Singla DK *et al.* 2009). Mancano tuttavia studi sull'outcome a lungo termine di tali disfunzioni miocardiche nel neonato con asfissia perinatale.

L'ipotermia attualmente rappresenta l'unica terapia efficace nel ridurre il danno cerebrale post-asfittico (Jacobs S *et al.* 2007). Essa agisce sulla cosiddetta fase di "ri-perfusione" riducendo il metabolismo cerebrale, il rilascio di citochine e di radicali liberi dell'ossigeno. La più recente metanalisi della letteratura dimostra che il trattamento ipotermico, in bambini con encefalopatia ipossico-ischemica di grado severo-moderato, riduce la mortalità e il rischio di disabilità maggiori a 18 mesi di vita (Jacobs S *et al.* 2007), ma non è noto se l'effetto ipotermico possa agire anche sul danno miocardico. Alcuni studi condotti sugli adulti suggeriscono che l'ipotermia possa preservare

la funzione cardiaca dopo infarto miocardio acuto⁴, tuttavia non è noto se l'effetto ipotermico possa agire anche sul danno miocardio nel neonato con asfissia perinatale influenzando diversamente l'outcome cardiologico a distanza.

2. VALUTAZIONE DEL DANNO CARDIACO IN AMBITO NEONATALE

La diagnosi di danno miocardio acuto si basa, oltre che su dati clinici, sulla valutazione del tracciato elettrocardiografico, sull'ecocardiografia e sul dosaggio di alcuni markers sierici.

2.1 Markers biochimici

Le troponine sono proteine ad alto peso molecolare che si trovano nel citoplasma dei miociti, coinvolte nel controllo della contrazione muscolare. Sono composte da tre sub-unità: I, C e T. La troponina C è presente nella stessa isoforma sia nel muscolo scheletrico che in quello cardiaco, mentre la troponina I e la troponina T presentano isoforme cardiospecifiche, e pertanto vengono considerati enzimi altamente specifici di danno miocardico.

La troponina T (cTnT) viene utilizzata routinariamente nell'adulto come indice di ischemia miocardica. Recenti studi hanno stabilito valori di normalità neonatali: un dosaggio ematico > 0,1 mcg/L è considerato anormale ed indicativo di ischemia miocardica (Sweetman D *et al.* 2012; Alpert JS *et al.* 2000). Tali studi hanno inoltre dimostrato che i neonati con asfissia perinatale presentano valori di cTnT significativamente più elevati rispetto ai neonati sani. Il rialzo della cTnT sembra correlare con il riscontro ecocardiografico di disfunzione miocardica e con il grado di severità dell'asfissia. Il rialzo della cTnT raggiunge il picco dopo circa 12 ore e permane per alcuni giorni dopo l'insulto ipossico (Costa S *et al.* 2007; Shastri AT *et al.* 2012). Un recente studio ha dimostrato che elevate concentrazioni di troponina I correlano negativamente con il grado di encefalopatia, con la disfunzione cardiaca e con lo sviluppo neuromotorio e a 18 mesi di vita (Montaldo P *et al.* 2014).

Il peptide natriuretico cerebrale (BNP) è un ormone endogeno secreto in seguito a variazioni di pressione, volume e stress delle pareti ventricolari. La sua sintesi contrasta il sistema renina-angiotensina favorendo diuresi, natriuresi e dilatazione vascolare. (El- Kuffash A *et al.* 2007; Witthaut *et al.* 2004). Il Pro-BNP è il precursore inattivo di BNP, più stabile e con emivita più lunga (Witthaut *et al.* 2004). I livelli ematici del peptide sono dipendenti dall'età, dal sesso e dalla metodica utilizzata. In una recente revisione della letteratura sono stati stabiliti i valori di normalità per l'età pediatrica e neonatale. (Nir A *et al.* 2009) Attualmente non è ancora utilizzato nella pratica clinica di routine, ma essendo un marker di stress parietale secondario a danno miocardico o ad ipertensione polmonare, il pro-BNP sembra poter contribuire alla quantificazione della

disfunzione cardiaca nei neonati con encefalopatia ipossico-ischemica. (Sweetman D *et al.* 2012; Reynolds EW *et al.* 2004; Rui Z, Zhenhong N 2015).

2.2 Elettrocardiogramma

L' elettrocardiografia gioca un ruolo importante nella valutazione del danno cardiaco nel neonato con asfissia perinatale (Sweetman D *et al.* 2012). Le alterazioni elettrocardiografiche post-asfissia segnalano un avvenuto evento ischemico e vengono classificate in 4 gradi di intensità secondo i criteri di Jedeikin *et al.* (Jedeikin R *et al.* 1983, Barbieri I *et al.* 1999) (figura 1). Recenti studi hanno dimostrato che variazioni ECG di grado 3-4 sono significativamente associate a gradi severi di encefalopatia ipossico-ischemica (Sweetman D *et al.* 2012). Le variazioni elettrocardiografiche costituiscono quindi un importante fattore predittivo dell' outcome dei bambini con encefalopatia ipossico-ischemica.

Table 1 Electrocardiographic criteria of myocardial ischaemia in term neonates [Jedeikin et al. (28)]

Electrocardiographic grade	Features
1	T-wave flat or inverted in 1 or 2 leads (except AVR) Normal ST segments Normal Q waves
2	T-wave flat or inverted in >3 leads (except AVR) Normal ST segments Normal Q waves
3	T-wave flat or inverted in >3 leads (except AVR) and either: ST depression or elevation >2 mm in at least 2 chest leads or >1 mm in at least 2 standard leads OR Q-wave abnormality defined as duration >0.02 sec or amplitude >25% R wave in 1 anterior or 3 related chest leads
4	Classical segmental infarction with abnormal Q-wave and markedly raised ST segments or complete left bundle branch block

Figura 1. Criteri elettrocardiografici di ischemia miocardia nel neonato a termine (Jedeikin *et al.* 1983)

2.3 Ecocardiografia

La valutazione ecocardiografica è fondamentale per riconoscere precocemente una disfunzione cardiaca ed ottimizzare la terapia con inotropi durante la fase acuta. La disfunzione miocardica che deriva da un insulto ipossico può includere riduzione della contrattilità e degli output ventricolari, insufficienza valvolare, alterazioni localizzate delle pareti cardiache ed incremento della pressione arteriosa polmonare (Barbieri I *et al.* 1999, Wei Y *et al.* 2009). Oltre alla valutazione di questi parametri ecocardiografici considerati standard, altre misurazioni possono aiutare ad un'analisi più completa della funzionalità cardiaca sia in acuto che a lungo termine.

Tricuspidal Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE)

Il TAPSE è un indice ecocardiografico che permette di studiare la funzione sistolica del ventricolo destro negli adulti e nei bambini. Si esegue tramite ecocardiografia bidimensionale in modalità M-mode e misura l'escursione sistolica dell'anulus tricuspidalico verso l'apice del cuore (figura 2). Da recenti pubblicazioni sembra essere l'indice con più alta specificità e sensibilità per alterazioni della funzionalità sistolica del ventricolo destro (Koestenberger M *et al.* 2009). In ambito neonatale non viene ancora utilizzato routinariamente. Un recente studio riporta i valori di *normalità* per i neonati a termine e pretermine a partire dalle 25 settimane di età gestazionale. (Koestenberger M *et al.* 2011).

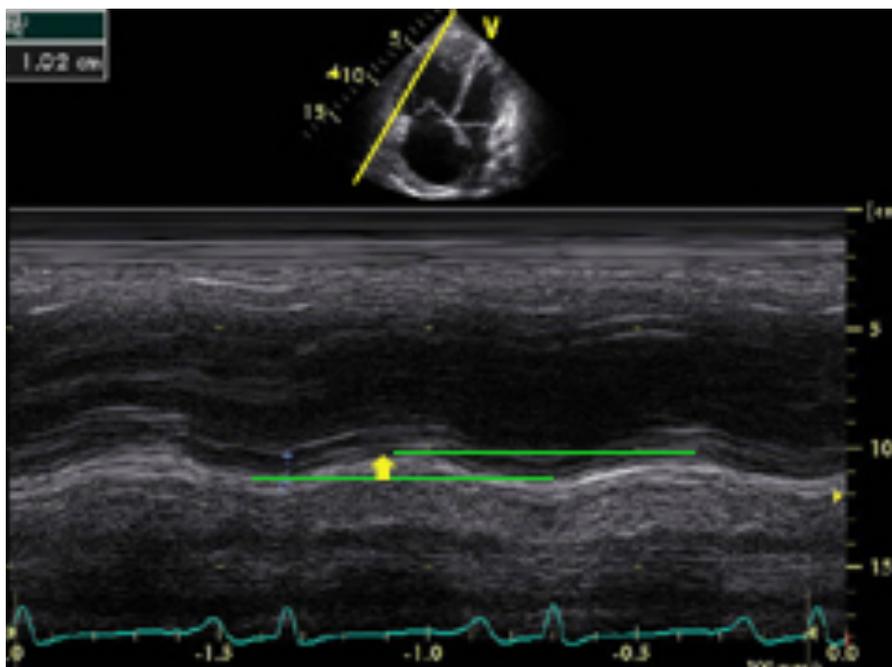


Figura 2. TAPSE (Tricuspidal Anular Plane Systolic Excursion)

Tissue Doppler Imaging (TDI)

Il Tissue Doppler Imaging (TDI) è una tecnica ecocardiografica relativamente nuova in grado di darci informazioni sulla dinamica delle pareti ventricolari (Negrine RJS *et al.* 2010, Mori K *et al.* 2004) e di prognosticare il grado di disfunzione cardiaca (Dujardin KS *et al.* 1998). Recentemente è stata dimostrata la sua maggiore sensibilità rispetto alle metodiche tradizionali nel cogliere alterazioni a carico della funzione sistolica del ventricolo sinistro (Wei) e della funzionalità sia sistolica che diastolica del ventricolo destro in neonati asfissati. (Matter M *et al.* 2010)

Il TDI può essere eseguito secondo due modalità: il TD ad onda pulsata e il color TD. Il TD a onda pulsata misura le velocità di picco ed è particolarmente adatto alla valutazione della funzione longitudinale; con il color TD una codifica a colori delle velocità miocardiche è sovrapposta alle immagini in scala di grigi, indicandone direzione e velocità del movimento. Le velocità longitudinali miocardiche possono essere registrate mediante TD pulsato (PW-TDI) dalla proiezione apicale (sezione 4 camere) (Quinones *et al.* 2002), tenendo presente che il posizionamento a livello dell'anello valvolare mitralico valuta il movimento sistolo-diastolico globale del ventricolo sinistro e quello a livello dell'anello tricuspideale è, invece, espressione dell'analogo movimento del ventricolo destro. Posizionando un volume di campione di piccole dimensioni nella parte dell'anello valvolare che si vuole analizzare si ottiene la registrazione spettrale delle velocità e degli intervalli di tempo a livello miocardico.

Il PW-TDI determina la visualizzazione di tre onde principali nella traccia doppler pulsata: un'onda positiva sistolica (S') e due onde negative (E' e A') correlate al riempimento diastolico rispettivamente precoce (E') e tardivo (A') del ciclo cardiaco (figura 3).

Il PW-TDI, filtrando segnali a bassa ampiezza e ad alta frequenza ed analizzando solo gli impulsi doppler ad alta ampiezza e a bassa frequenza prodotti dal movimento delle pareti cardiache, risulta essere indipendente dal precarico e dal post-carico, e pertanto vantaggioso rispetto alle tradizionali tecniche doppler utilizzate nell'ecografia standard. Inoltre il rapporto E/E', fra il flusso diastolico precoce atrioventricolare E e il picco di velocità miocardica diastolica precoce E', correla significativamente con una disfunzione diastolica (Negrine RJS *et al.* 2010). Mentre negli adulti e nei bambini tale tecnica viene già utilizzata nella pratica clinica, in ambito neonatale sono stati pubblicati studi che ne attestano la riproducibilità sia nel neonato a termine che pretermine (Mori K *et al.* 2004, Joshi S *et al.* 2010). Tuttavia risulta ancora necessario definire meglio il ruolo che questa metodica può avere in ambito neonatologico (Negrine RJS *et al.* 2010) e se tale tecnica possa contribuire a definire meglio il danno cardiaco secondario ad asfissia perinatale sia per la gestione in acuto che per un outcome a lungo termine.

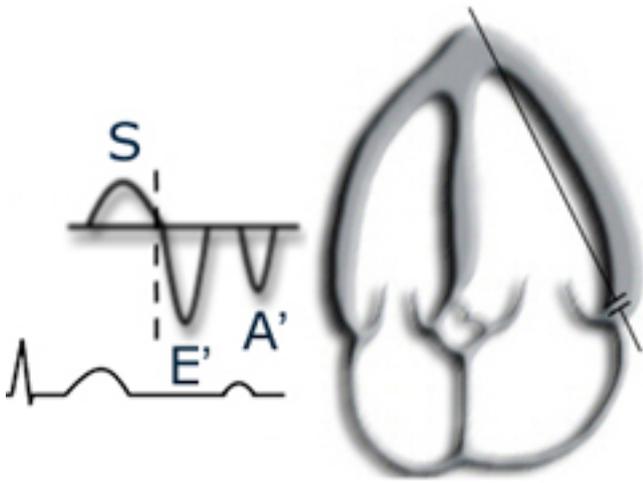


Figura 3. Schema di pattern Doppler tissutale pulsato a livello dell'anello mitralico laterale.

3. PROGETTO DI RICERCA

3.1 Obiettivi dello studio

Gli obiettivi del nostro studio sono:

1) Endpoint primario:

Definire con maggiore precisione, in fase acuta, il danno miocardico conseguente ad asfissia perinatale mediante l'uso di tecniche ecocardiografiche tradizionali e tecniche più sensibili, associate a dosaggi dei markers sierici di danno miocardio, di cui esistono valori di normalità neonatali ma che non sono ancora utilizzati routinariamente nella pratica clinica.

2) Endpoint secondario:

2. Valutare l'outcome a lungo termine del danno cardiaco derivato dall'insulto ipossico-ischemico e chiarire l'importanza di un follow-up cardiologico.

3.2 Materiali e Metodi

Questo studio di coorte osservazionale prospettico è stato effettuato tra Gennaio 2013 e Gennaio 2016. Sono stati arruolati nello studio i pazienti consecutivamente ricoverati presso la Terapia Intensiva Neonatale (TIN) del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, che soddisfacevano tutti i seguenti criteri:

Criteri di inclusione

- **Età gestionale ≥ 35 settimane**
- **Peso alla nascita ≥ 1800 g**
- **Ipossia intrapartum** definita da *almeno uno* dei seguenti criteri:
 - a. Punteggio di Apgar ≤ 5 a 10 minuti di vita **OR**
 - b. Necessità di proseguire la rianimazione con tubo endo-tracheale o maschera e pallone ancora a 10 minuti di vita **OR**
 - c. Acidosi definita come $\text{pH} \leq 7.0$ **OR** $\text{BE} \geq 12$ mmol/l (da prelievo da arteria ombelicale o da EGA ottenuta nei primi 60 minuti di vita)
- **Encefalopatia ipossico-ischemica** di qualsiasi grado valutata tra 30 e 60 minuti di vita mediante l'esame obiettivo neurologico (figura 4).
- **Ottenimento del consenso informato**

Criteria di esclusione

Sono stati invece esclusi dallo studio i pazienti che presentavano:

- Malformazioni maggiori
- Cardiopatie congenite

Disegno dello studio

I neonati arruolati sono stati sottoposti a monitoraggio dell'attività elettrica cerebrale mediante aEEG (CFM o EEG) in base al quale sono stati suddivisi in due gruppi (figura 5):

- **Gruppo 1** : se presentavano tracciato elettroencefalografico indicativo di encefalopatia moderato-severa, tale da richiedere trattamento ipotermico;
- **Gruppo 2**: se presentavano tracciato elettroencefalografico indicativo di encefalopatia lieve, tale da non richiedere trattamento ipotermico,

in accordo con le *Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica candidato al trattamento ipotermico*, del Gruppo di Studio di Neurologia Neonatale.

Il trattamento ipotermico è stato eseguito con ipotermia selettiva (cool cap), con mantenimento della temperatura rettale fra 34.5 e 35.5°C.

Tutti i neonati hanno effettuato monitoraggio dei parametri vitali (FC, FR, SatO₂).

Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica
possibile candidato al trattamento ipotermico

6.0. ALLEGIATI

Allegato 1: Esame obiettivo neurologico

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

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

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

Figura 4. Esame obiettivo neurologico secondo Shankaran (Shankaran S *et al*, *N Engl J Med* 2005). Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica candidato al trattamento ipotermico, II edizione.

Criteria di inclusione:

1. EG ≥ 35 settimane
2. PN ≥ 1800 g
3. Ipossia intrapartum
 - Apgar Score ≤ 5 a 10 minuti di vita OR
 - Manovre rianimatorie a 10 minuti di vita OR
 - Acidosi definita come pH ≤ 7.0 o BE ≥ 12 mmol/l
4. Encefalopatia ipossico-ischemica lieve-severa
5. Consenso informato

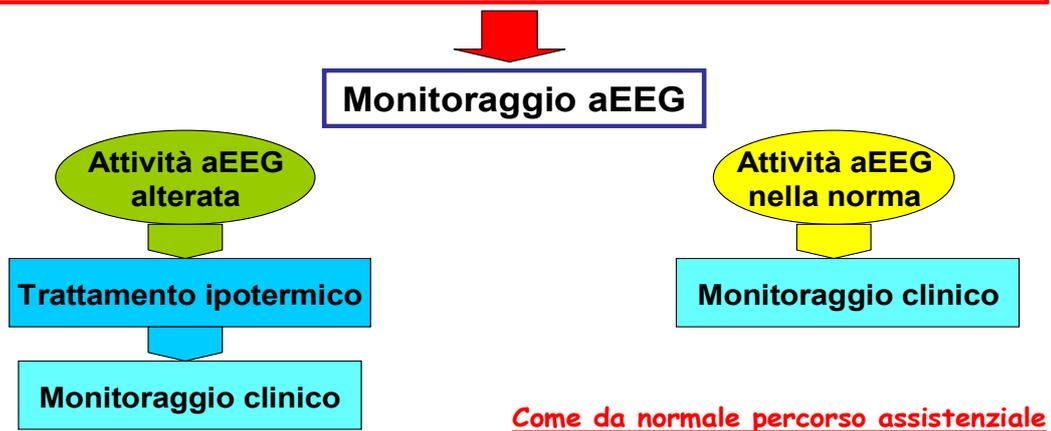


Figura 5. Algoritmo terapeutico-assistenziale

Esami di Laboratorio

Durante il ricovero, tutti i neonati appartenenti ad entrambi i gruppi sono stati sottoposti a dosaggio ematico di Troponina T (cTnT) e Pro-BPN entro le 6 h di vita, a 12 ore, a 24 ore di vita e in 7° giornata di vita.

Gli esami di laboratorio sono stati inviati ed effettuati presso il Laboratorio Centralizzato del Policlinico S. Orsola-Malpighi.

Esami strumentali

1) Elettrocardiogramma (ECG)

Tutti i neonati sono stati sottoposti a tracciato elettrocardiografico (ECG) entro 6 ore di vita, a 36 ore di vita ed in 7° giornata di vita. Durante il follow-up è stato effettuato un ECG a 12 mesi di vita. I bambini appartenenti al gruppo 1 hanno eseguito ECG anche al termine del trattamento ipotermico dopo la fase di riscaldamento, ad 1 mese, 6 mesi e 18 mesi di vita. Le alterazioni elettrocardiografiche sono state classificate in 4 gradi di intensità secondo i criteri di Jedeikin (figura 1).

2) Ecocardiografia (ECHO)

L'esame ecocardiografico è stato effettuato con un ecografo Philips HD11XE con una sonda S12-4 Hz. Due soli operatori hanno effettuato tutte le ecografie. I dati ecografici sono stati analizzati successivamente.

Tutti i neonati hanno effettuato un ecocardiografia entro 6 h di vita, a 36 h, ed in 7° giornata di vita. Il follow-up ecocardiografico è stato effettuato per tutti i neonati a 12 mesi di vita. I bambini appartenenti al gruppo 1 hanno eseguito l' ecocardiografia anche al termine del trattamento ipotermico dopo la fase di riscaldamento, a 1 mese , 6 mesi e 18 mesi di vita.

All' ecocardiografia sono state analizzate le seguenti misure:

- Standard ECHO:

LEFT VENTRICULAR OUTPUT (LVO)

LVO è stato calcolato secondo la formula [(left ventricular outflow velocity time integral) = [VTI] × (heart rate) × (left ventricular outflow cross-sectional area)], indicizzato per il peso del paziente. Il diametro dell'aorta è stato misurato dalla proiezione parasternale asse lungo, misurando il diametro interno nel punto di inserzione dei lembi valvolari in telesistole (Mertens L *et al.* 2011) (figura 6).

Il VTI (Velocity Time Integral) è stato calcolato con il Pulse-Wave Doppler, dalla proiezione cinque camere apicale, con marker posizionato a livello della valvola aortica (figura 7).

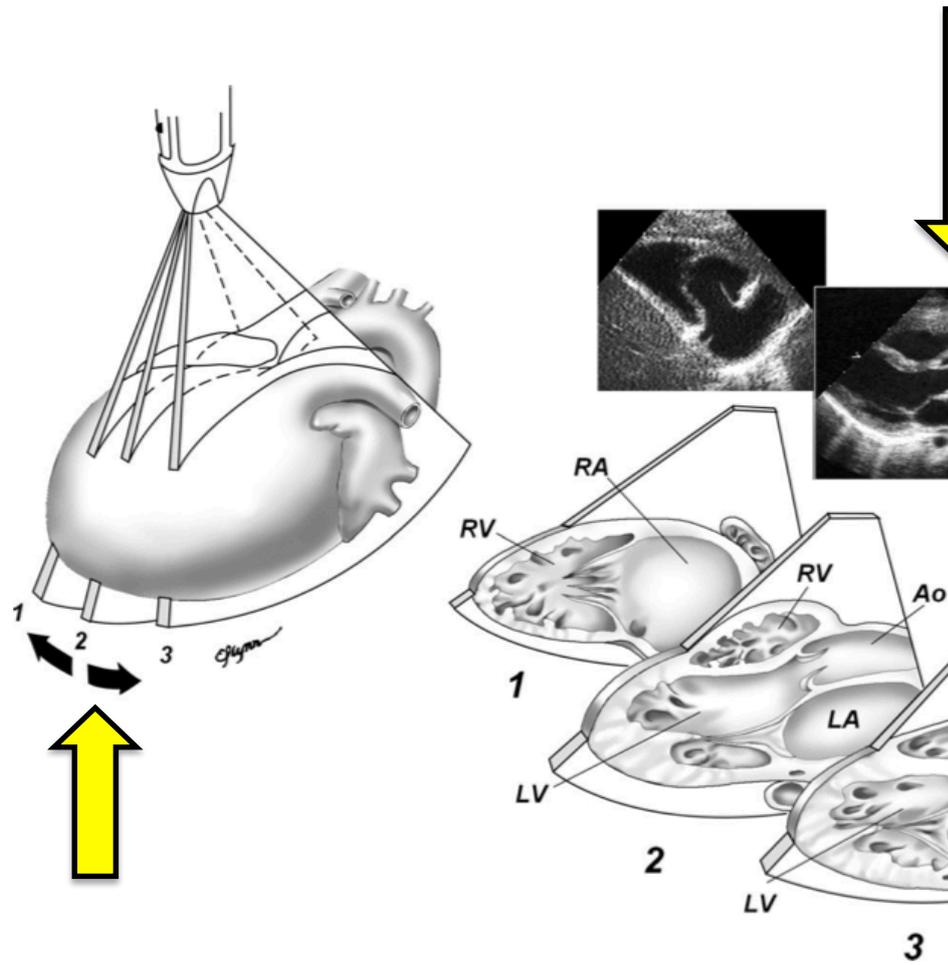


Figura 6. Proiezione parasternale asse lungo per il calcolo del diametro dell'aorta (indicato dalla freccia)

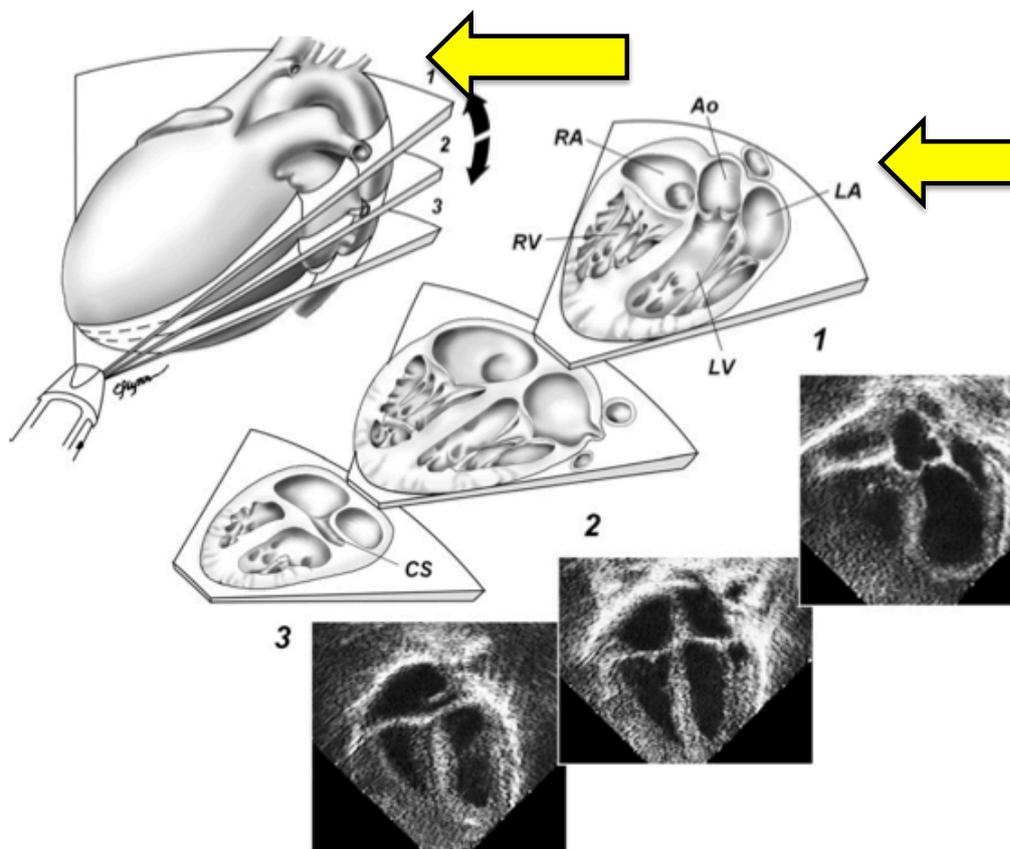


Figura 7. Proiezione 5 camere apicale per il calcolo del VTI (indicato dalla freccia)

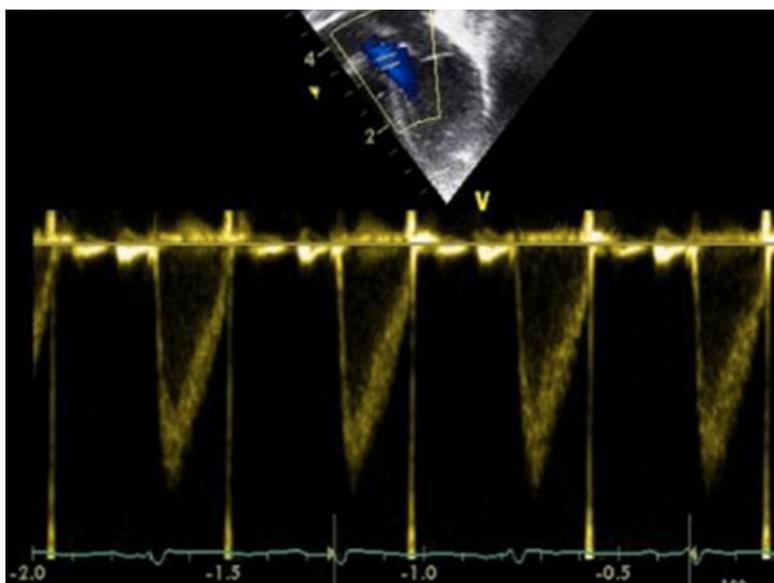


Figura 8. Pulse wave-doppler a livello della valvola aortica per il calcolo del VTI

RIGHT VENTRICULAR OUTPUT (RVO)

RVO è stato calcolato secondo la formula [(right ventricular outflow velocity time integral) [VTI] × (heart rate) × (right ventricular outflow cross-sectional area)], indicizzato per il peso del paziente. Il diametro della valvola polmonare è stato misurato dalla proiezione parasternale asse lungo, misurando il diametro interno nel punto di inserzione dei lembi valvolari in telesistole (Mertens L *et al.* 2011) (figura 9).

1422 Lai et al

Journal of the American Sc

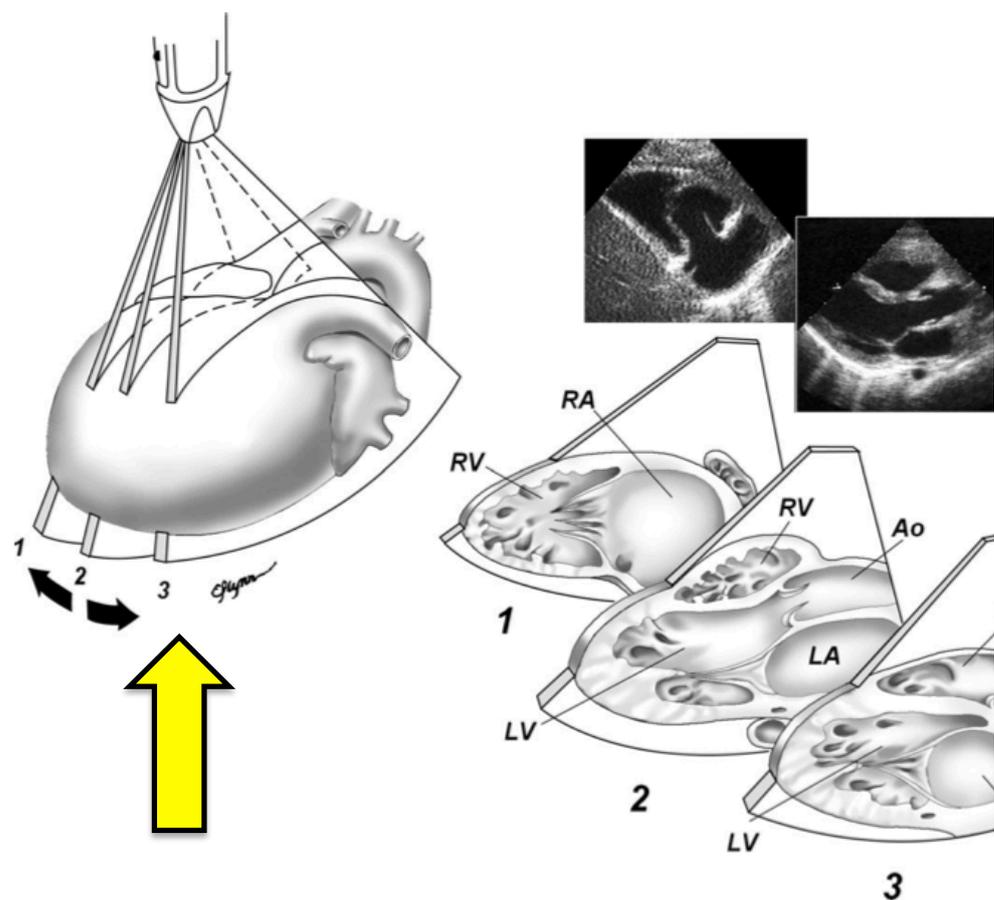


Figura 9. Proiezione parasternale asse lungo per il calcolo del diametro della polmonare (indicato dalla freccia)

Il VTI (Velocity Time Integral) per il ventricolo destro è stato valutato con Pulse-Wave doppler, dalla proiezione parasternale asse lungo, con il marker a livello della valvola polmonare .

Sia il VTI sinistro che quello destro sono stati calcolati usando la media di 3-5 cicli cardiaci consecutivi per minimizzare le variazioni correlate ai cicli respiratori.

TRICUSPID ANNULAR PLANE SYSTOLIC EXCURSION (TAPSE)

E' stato valutato in 2D M-Mode, dalla proiezione 4 camere apicale con il cursore sulla parete libera dell'*anulus* tricuspidalico. Il TAPSE è dato dall'escursione massima della tricuspide dall'inizio della diastole alla fine della sistole (Kaul S *et al.* 1984). Rappresenta un buon indicatore della funzione sistolica ventricolare destra (Koestenberger M *et al.* 2011).

MITRAL ANNULAR PLANE SYSTOLIC EXCURSION (MAPSE)

E' stato valutato con 2D M-Mode, dalla proiezione 4 camere apicale con il cursore sulla parete libera dell'*anulus* mitralico. Il MAPSE è dato dall'escursione massima della tricuspide dall'inizio della diastole alla fine della sistole.

FUNZIONE DIASTOLICA VENTRICOLARE (E/A)

E' stata valutata con il Pulse-wave Doppler, dalla proiezione 4 camere apicale, con marker a livello della mitrale (figura 10) e della tricuspide. Durante la diastole vengono prodotte due onde di flusso: l'onda E che rappresenta il riempimento passivo precoce del ventricolo, e l'onda A che si produce nella telediastole e rappresenta il riempimento ventricolare attivo dato dalla spremitura degli atri.

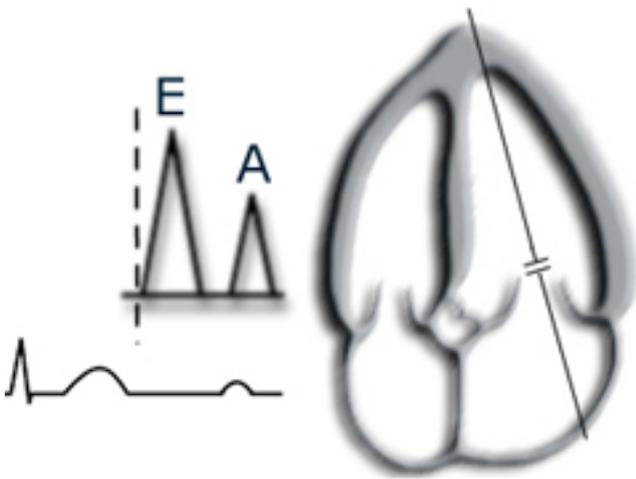


Figura 10. Pulse-wave Doppler a livello della valvola mitrale.

- Analisi TDI (Tissue Doppler Imaging)

Le velocità miocardiche per il ventricolo sinistro e per il ventricolo destro sono state ottenute dalla proiezione quattro camere apicale, posizionando il marker lateralmente rispettivamente alla valvola mitrale e alla valvola tricuspide. Sono state misurate 3 onde di picco: Systolic (Sm), Early Diastolic (Em) and Late Diastolic (Am).

Il rapporto E/Em è stato calcolato per ogni ventricolo.

PERFORMANCE VETRICOLARE (SITOLICA E DIASTOLICA): TEI INDEX

Il Tei index è stato calcolato dalla proiezione quattro camere apicale con il doppler pulsato, e calcolato con la formula $(a-b)/b$ (Figura 8), sia per il ventricolo sinistro che per il ventricolo destro. (Lakoumentas JA *et al.* 2005)

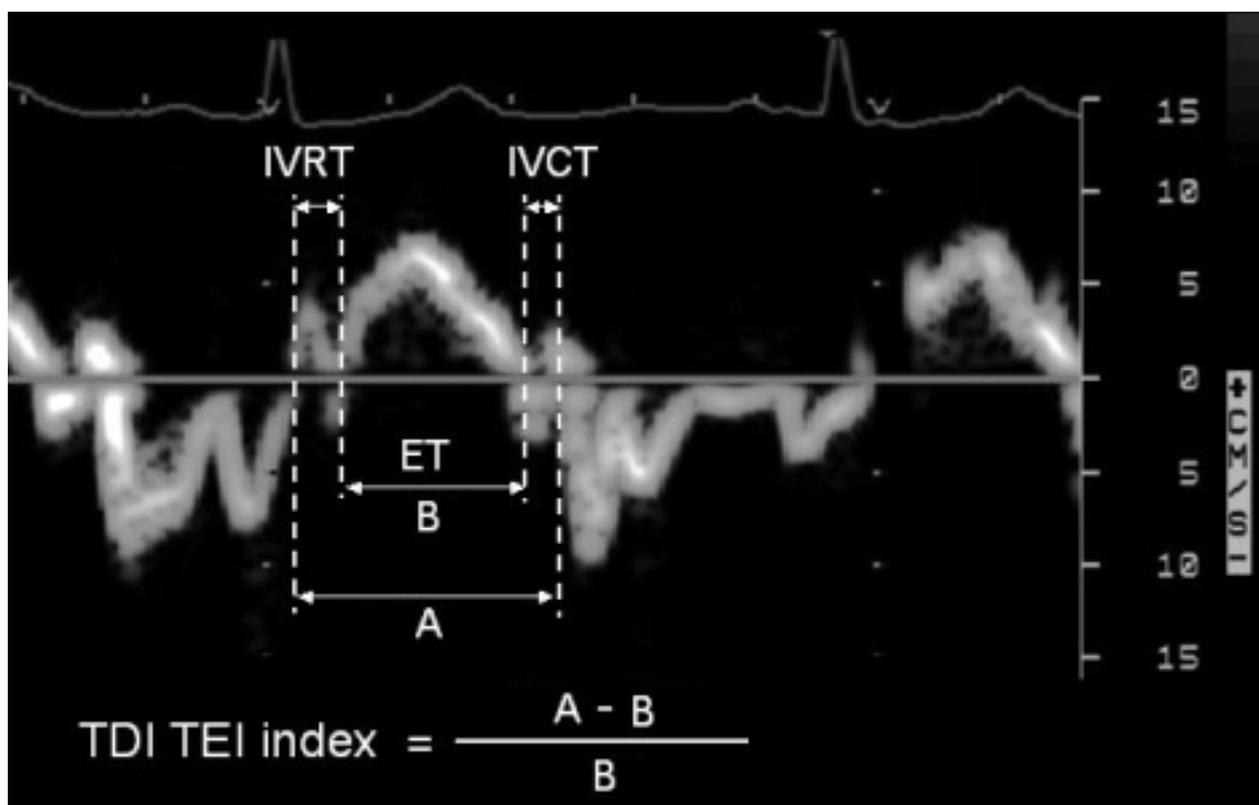


Figura 11 Rappresentazione schematica del Tei index. **a**: intervallo di tempo tra la fine e l'inizio del flusso transmitralico. **b**: tempo di eiezione ventricolare sinistro. ET (b) left ventricular ejection time, IVCT: isovolumic contraction time, IVRT: isovolumic relaxation time.

Comitato Etico

Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi di Bologna. I genitori dei pazienti arruolati, regolarmente informati, hanno provveduto alla firma del consenso.

Analisi Statistica

I dati sono stati analizzati usando SPSS 16.0 per Windows (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, III, US). I dati non erano distribuiti normalmente pertanto è stato utilizzato un metodo statistico non parametrico. In particolare le differenze tra le concentrazioni di troponina e pro-BNP e le misure ecografiche nelle varie tempistiche sono state valutate con il Mann-Whitney Test. La relazione tra troponina e valutazioni ecografiche a 12 mesi è stata valutata con il test di Spearman. Un valore di $p < 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

3.3 Risultati

In questo studio sono stati arruolati 15 neonati ricoverati consecutivamente presso la nostra Terapia Intensiva Neonatale con diagnosi di asfissia perinatale; 7 di essi hanno presentato un quadro di encefalopatia ipossico-ischiemica moderato-severa trattata con ipotermia selettiva (Gruppo 1) , mentre 8 hanno presentato un'encefalopatia di grado lieve, tale da non richiedere trattamento ipotermico (Gruppo 2) in accordo con le *Raccomandazioni per l'assistenza al neonato con encefalopatia ipossico-ischemica candidato al trattamento ipotermico*, II edizione 2012, Gruppo di Studio di Neurologia Neonatale.

I dati demografici e le caratteristiche cliniche dei neonati arruolati nello studio sono riportate nella tabella 1. Non sono risultate differenze significative tra i due gruppi studiati per quanto riguarda età gestazionale, peso alla nascita, Apgar score a 1, 5 e 10 minuti, pH e BE.

- Dati di laboratorio

Le concentrazioni sieriche dei markers studiati (cTnT , CPK e Pro-BNP) nelle diverse tempistiche sono risultate più elevate nei pazienti del gruppo 1 rispetto a quelli del gruppo 2 (tabella 2). In particolare la concentrazione sierica della cTnT è risultata maggiore nei neonati con asfissia severa nelle prime 24 ore dall'evento asfittico. Le concentrazioni sieriche di pro-BNP a 7 giorni sono risultate significativamente più elevate nei bambini del gruppo1.

	Gruppo 1 (n=7)	Gruppo 2 (n=8)	P
Età gestazionale(settimane)	39.1 ± 1.9	39.8± 1.3	0.53
Peso alla nascita (g)	3151 ± 279.8	3513.6 ± 504.6	0.23
Apgar score a 1 min	4.14 (0-7)	4.8 (2-6)	0.46
Apgar score a 5 min	6.0 (3-8)	7,8 (6-9)	0.23
Apgar score a 10 min	6.7 (4-9)	8.7 (6-10)	0.23
pH alla nascita	6.9 ± 0.2	6.9 ± 0.1	0.46
BE mmol/L	-19.6 ± 6.3	-16.5 ± 2.9	0.28
Supporto inotropo	7 (100%)	0	
Multiorgan failure*	2 (29%)	0	
IVH	1	0	
Mortalità	0	0	

Tabella 1. Dati demografici e caratteristiche cliniche dei neonati arruolati

* In particolare 1 paziente ha presentato insufficienza renale acuta trattata con dialisi peritoneale e 1 insufficienza epatica acuta.

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
cTnT 0-6h (µg/L)	0.44 (0.09 – 1.87)	0.10 (0.03 – 0.17)	0.23
cTnT 12h	0.40 (0.09 – 1.28)	0.11 (0.049 – 0.21)	0.072
cTnT 24h	0.26 (0.02 – 0.7)	0.07 (0.04 – 0.10)	0.29
cTnT 7gg	0.07 (0.03 – 0.18)	0.06 (0.03 – 0.10)	0.83
CPK 6h (U/L)	2185.41 (432-5834)	800.13 (307-1820)	0.081
CPK 12h	6294 (1592-16464)	1968.46 (382-3762)	0.35
CPK 24h	3959.71 (482-14474)	1820.20 (635-2769)	1
CPK 7 gg	264.67 (114-461)	140.67 (107-162)	0.167
Pro-BNP 6h (pg/mL)	7632.5 (543 – 35000)	2204.25 (857 – 4679)	0.75
Pro-BNP 12h	6300.75 (2578 – 14468)	11361.25 (3763 – 29676)	0.21
Pro-BNP 24h	4754 (1278 – 17156)	5812.4 (1614 – 10889)	0.34
Pro- BNP 7 gg	11369.57 (1652 – 35000)	1055.00 (735 – 1278)	0.017

Tabella 2. Valori di troponina T (cTnT), CPK e Pro-BNP nei due gruppi a 6h, 12h, 24h e a 7 giorni dall' evento asfittico.

- Elettrocardiogramma

Confrontando i tracciati elettrocardiografici eseguiti nelle varie tempistiche sono state evidenziate differenze significative ($p=0.007$) negli score dei tracciati ECG eseguiti sui due gruppi a 6 h, valutati secondo i criteri di Jedeikin (tabella3).

	SCORE TRACCIATI ECG				
	0	1	2	3	4
Gruppo1	0	2	3	2	0
Gruppo2	0	7	1	0	0

Tabella 3. Differente distribuzione degli score dei tracciati elettrocardiografici fra i due gruppi a 6 h, secondo i criteri di Jedeikin (vedi figura 2) . Lo score 0 rappresenta un tracciato privo di alterazioni legate ad evento ischemico.

- Misure Ecocardiografiche standard

Tutti i bambini arruolati hanno eseguito controlli ecografici entro 6 ore di vita, a 36 ore e in 7° giornata. Un solo paziente non si è presentato al controllo ecocardiografico a 12 mesi, mentre 2 pazienti del gruppo1 devono ancora eseguire il follow-up a 18 mesi.

Le misure ecocardiografiche convenzionali riferite all'output cardiaco del ventricolo sinistro (LVO) e del ventricolo destro (RVO) sono riportate nella tabella 4.

	Gruppo 1	Gruppo2	P
LVO 6h (ml/Kg/min)	130.41 ± 37.12	216.09 ± 56.40	0.009
LVO 36h	112.25 ± 36.94	184.04 ± 26.71	0.001
LVO p.i.	203.12 ± 75.81	*	
LVO 7gg	249.90 ± 38.85	217.78 ± 23.80	0.189
LVO 1m	296.51 ± 153.18	*	
LVO 6m	169.41 ± 57.00	*	
LVO 12m	166.35 ± 68.23	162.84 ± 39.6	0.80
LVO 18m	122.56 ± 9.30	*	
RVO 6h (ml/Kg/min)	139.51 ± 33.26	232.91 ± 77.55	0.006
RVO 36h	172.97 ± 66.29	251.81 ± 79.99	0.072
RVO p.i.	239.67 ± 90.11	*	
RVO 7gg	292.35 ± 66.13	243.19 ± 58.82	0.152
RVO 1m	450,50 ± 302,54	*	
RVO 12m	165.61 ± 59.82	188.85 ± 52.37	0.45
RVO 18m	113.25 ± 15.82	*	

Tabella 4. Output del ventricolo sinistro (LVO) e del ventricolo destro (RVO) nei due gruppi.

* Dato non disponibile per indagine non prevista dal protocollo

L'output cardiaco del ventricolo sinistro (LVO) a 6h e a 36h è risultato significativamente più basso nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2. Non ci sono state differenze significative tra i due gruppi per LVO a 7gg e nel controllo eseguito a 12 mesi. Nel gruppo 2 i valori di LVO si sono sempre mantenuti nei limiti della norma per età.

Per quanto riguarda l'output del ventricolo destro (RVO), anch'esso a 6h è risultato significativamente più basso nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2. Nei controlli successivi non sono state riscontrate differenze significative tra i due gruppi. Nel gruppo 2 i valori di LVO si sono sempre mantenuti nei limiti della norma per età.

L' inflow velocity attraverso la valvola mitrale e la tricuspide misurate con il doppler convenzionale non hanno mostrato differenze significative (tabella 5).

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
MV E/A 6h	0.97±0.56	1.11 ± 0.27	0.779
MV E/A 36h	0.94 ± 0.14	0.89 ± 0.14	0.336
MV E/A p.i.	0.88 ± 0.16	*	
MV E/A 7gg	1.03 ± 0.21	1.00 ± 0.23	0.613
MV E/A 1m	1.53 ± 0.89	*	
MV E/A 6m	1.45 ± 0.57	*	
MV E/A 12m	1.50 ± 0.23	1.54 ± 0.27	0.730
MV E/A 18m	1.29 ± 0.07	*	
TV E/A 6h	0,80 ± 0.63	0.77 ± 0,21	0.779
TV E/A 36h	0.78 ± 0.14	0.81 ± 0,17	0.755
TV E/A p.i.	0.78 ± 0.28	*	
TV E/A 7gg	0.87 ± 0.35	0.77 ± 0.11	0.779
TV E/A 1m	1.07 ± 0.17	*	
TV E/A 6m	1,30 ± 0,21	*	
TV E/A 12m	1.04 ± 0.40	1.32 ± 0.50	0.620
TV E/A 18m	1.53 ± 0.12	*	

Tabella 5. Valori della funzione diastolica del ventricolo sinistro (MV E/A) e del ventricolo destro (TV E/A). * Dato non disponibile per indagine non prevista dal protocollo.

Per quanto riguarda la funzione sistolica ventricolare destra valutata in M-mode (TAPSE), è stata evidenziata una differenza significativa tra i due gruppi a 6h (tabella 6).

Per la funzione sistolica ventricolare sinistra invece, non è stata evidenziata nessuna differenza significativa.

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
TAPSE 6h	0.38 ± 0.36	0.95 ± 0.15	0.001
36h	0.72 ± 0.21	0.92 ± 0.16	0.12
p.i.	0.84 ± 1.91		
7gg	0.94 ± 0.30	1.03 ± 0.22	0.950
1m	1,14 ± 0,28	*	
6m	1,67 ± 0,21	*	
12m	1.88 ± 0,25	1.71 ± 0.25	0.25
18m	2.02 ± 0.14	*	

Tabella 6. TAPSE e z score calcolati sui valori di normalità per età e superficie corporea (Koestenberger et al, 2011). * Dato non disponibile per indagine non prevista dal protocollo.

- *Tissue Doppler Imaging*

Le velocità misurate con TDI sono riportate nelle tabelle 7 e 8.

Le velocità rilevate a livello del margine laterale dell' anulus della valvola mitrale sono risultate inferiori nei pazienti del gruppo1 fino al termine del trattamento ipotermico, per poi assestarsi su valori di normalità dopo la fase di riscaldamento e nei controlli successivi. In particolare abbiamo riscontrato una velocità di picco sistolico (Sm) significativamente più bassa nel gruppo 1 durante il trattamento ipotermico (a 36h). Mentre l' onda diastolica precoce Em (Mitral early diastolic velocity) e quella tardiva Am (Mitral late diastolic velocity) sono risultate significativamente più basse nei bambini che hanno effettuato trattamento ipotermico subito dopo l' insulto asfittico (cioè entro le 6 h di vita). Per quanto riguarda le velocità rilevate a livello della porzione laterale della valvola tricuspide, sia la velocità di picco sistolico (Sm) che la velocità di riempimento diastolico precoce (Em) sono risultate significativamente più basse nel gruppo 1 a 6h.

Il rapporto E/Em per la valvola mitrale è risultato significativamente più basso nel gruppo dei bambini con encefalopatia severa a 7 giorni; nei controlli precedenti, pur essendo tale rapporto sempre inferiore nel gruppo 1, la differenza non risulta significativa.

Analogamente il rapporto Em/Am per il ventricolo sinistro è risultato inferiore nel gruppo1 a 7 giorni dall' evento ipossico-ischemico. Per il ventricolo destro invece il rapporto Em/Am per il gruppo1 appare inferiore subito dopo la nascita.

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
Mitral peak systolic (Sm) velocity (cm/s)			
6h	2.71 ± 2.04	4.62 ± 1.17	0.094
36h	3.65 ± 0.77	5.17 ± 0.77	0.008
p.i.	5.30 ± 1.01	*	
7gg	5.21 ± 1.09	5.03 ± 0.63	0.867
1m	6.32 ± 1.87	*	
6m	8.69 ± 1.62	*	
12m	9.57 ± 1.76	8.85 ± 3.46	0.53
18m	8.1 ± 1.57	*	
Mitral early diastolic (Em) velocity (cm/s)			
6h	3.04 ± 2.38	6.38 ± 1.90	0.009
36h	4.99 ± 1.92	5.63 ± 0.35	0.345
p.i.	6.44 ± 1.53	*	
7gg	4.98 ± 1.61	6.69 ± 1.56	0.152
1m	9.87 ± 4.07	*	
6m	11.64 ± 1.69	*	
12m	13.57 ± 3.15	10.52 ± 3.91	0.128
18m	14.90 ± 1.55	*	
Mitral late diastolic (Am) velocity (cm/s)			
6h	3,51 ± 0.90	5.32 ± 2.09	0.048
36h	4.51 ± 1.71	5.00 ± 1.66	0.534
p.i.	6,36 ± 1,81	*	
7gg	6.43 ± 1.53	5.16 ± 1.60	0.149
1m	6.63 ± 1.82	*	
6m	6.80 ± 1.24	*	
12m	8.47 ± 4.89	7.00 ± 2.91	0.29
18m	6.0 ± 0.90	*	
Left E/Em ratio			
6h	7.99 ± 6.00	10,50 ± 4.00	0.613
36h	10.29 ± 2.94	8.60 ± 1.43	0.282
p.i.	9,05 ± 2,73		
7gg	11.75 ± 5.70	8.03 ± 2.25	0.038
1m	10.10 ± 3.54	*	
6m	8,9 ± 0,92	*	
12m	7.68 ± 0.79	10.33 ± 4.61	0.097
18m	7.65 ± 1.23	*	
Left Em/Am ratio			
6h	0.87 ± 0.67	1.18 ± 0.57	0.39
36h	1.15 ± 0.29	1.24 ± 0.25	0.29
p.i.	1.09 ± 0.41	*	
7gg	0.78 ± 0.21	1.24 ± 0.24	0.008
1m	1.48 ± 0.45	*	
6m	1.77 ± 0.18	*	
12m	1.90 ± 0.87	1.65 ± 0.81	0.731
18m	2.47 ± 0.30	*	

Tabella 7. Misure al TDI per il ventricolo sinistro. Dato non disponibile per indagine non prevista dal protocollo

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
Tricuspid peak systolic (Sm) velocity (cm/s)			
6h	3.29 ± 2.37	5.48 ± 2.31	0.029
36h	5.55 ± 1.33	6.52 ± 1.08	0.58
p.i.	6.95 ± 2.54		
7gg	7.02 ± 1.50	6.23 ± 0.83	0.29
1m	9.54 ± 2.15	*	
6m	11.86 ± 4.57	*	
12m	13.22 ± 2.83	12.66 ± 2.80	1
18m	14.74 ± 2.63	*	
Tricuspid early diastolic (Em) velocity (cm/sec)			
6h	3.43 ± 2.63	6.62 ± 3.06	0.04
36h	4.86 ± 1.27	6.26 ± 1.03	0.132
p.i.	7.69 ± 1.66		
7gg	8.01 ± 1.85	6.47 ± 1.09	0.138
1m	11.43 ± 3.92	*	
6m	15.08 ± 5.53	*	
12m	15.27 ± 6.24	13.96 ± 5.56	0.83
18m	18.58 ± 4.93	*	
Tricuspid late diastolic (Am) velocity (cm/s)			
6h	5.49 ± 1.09	6.41 ± 0.97	0.202
36h	6.39 ± 1.85	8.51 ± 1.50	0.065
p.i.	9.59 ± 0.79		
7gg	9.37 ± 2.20	7.46 ± 1.58	0.181
1m	9.41 ± 1.46	*	
6m	9.37 ± 1.46	*	
12m	10.82 ± 3.21	11.70 ± 3.40	0.731
18m	10.54 ± 2.34	*	
Right E/Em ratio			
6h	7.34 ± 1.23	6.41 ± 1.49	0.421
36h	7.21 ± 1.23	7.26 ± 2.00	1
p.i.	6.39 ± 2.56		
7gg	6.61 ± 1.08	7.42 ± 1.18	0.315
1m	7.12 ± 1.80	*	
6m	6.25 ± 2.74	*	
12m	5.04 ± 1.34	4.97 ± 0.95	0.945
18m	3.86 ± 0.57	*	
Right Em/Am ratio			
6h	0.62 ± 0.48	1.05 ± 0.50	0.040
36h	0.77 ± 0.13	0.73 ± 0.070	0.818
p.i.	0.80 ± 0.15	*	
7gg	0.90 ± 0.36	0.89 ± 0.22	0.534
1m	1.18 ± 0.23	*	
6m	1.47 ± 0.41	*	
12m	1.47 ± 0.58	1.28 ± 0.55	0.534
18m	1.82 ± 0.55	*	

Tabella 8. Misure al TDI per il ventricolo destro

* Dato non disponibile per indagine non prevista dal protocollo

Il Tei index, sia per il ventricolo sinistro che per il ventricolo destro, è risultato maggiore nel gruppo 1 rispetto al gruppo2 in tutte le tempistiche, seppur in modo non non significativo. (tabella 8)

	Gruppo 1	Gruppo 2	P
Left Tei index			
6h	0.57 ± 0.09	0.66 ±0.18	0.53
36h	0.62 ± 0.09	0,65 ±0.23	0.75
p.i.	0.72 ± 0.17	*	
7gg	0.64 ± 0.14	0.65 ± .15	0.78
1m	0.57 ± 0.17	*	
6m	0.38 ± 0.07	*	
12m	0.52 ± 0.09	0.44 ± 0.08	0.13
18m	0,48 ± 0,06	*	
Right Tei index			
6h	0.43 ± 0.20	0.67 ± 0.20	0.073
36h	0.54 ± 0.09	0.58 ± 0.17	0.93
p.i.	0.69 ± 0.29	*	
7gg	0.53 ± 0.12	0.63 ± 0.26	0.684
1m	0.62 ± 0.46	*	
6m	0.74 ± 0.55	*	
12m	0.67 ± 0.54	0.39 ± 0.06	0.073
18m	0.87 ± 0.75	*	

Tabella 9. Valori del Tei index del ventricolo sinistro (L) e del ventricolo destro (R)

Nel gruppo dei pazienti sottoposti a trattamento ipotermico, andando a correlare i valori di cTnT sierica con gli output ventricolari, sia sinistro che per destro, a 12 mesi si è osservata una correlazione lineare tra LVO a 12 mesi e cTnT a 6h e a 12h. La correlazione lineare invece è scarsa se correliamo LVO a 18 mesi con i valori di troponina..

3.4 Discussione

I dati ottenuti mostrano che i neonati che hanno presentato asfissia associata ad un quadro di encefalopatia di grado severo-moderato, e che quindi hanno effettuato ipotermia (gruppo 1), presentano nelle prime ore di vita una riduzione di tutti i parametri di funzionalità cardiaca rispetto ai neonati con encefalopatia di grado lieve, che non hanno effettuato il trattamento (gruppo 2);. Infatti, nei bambini del gruppo 1, i valori di LVO a 6h e 12 h e quelli di RVO a 6h dall'insulto ipossico sono risultati inferiori sia a quelli di normalità per età (Ochwald O *et al* 2014) che a quelli del gruppo 2. Tali valori tuttavia, dopo il riscaldamento e a 7 giorni di vita rientrano nel range di normalità, non mostrando più differenze significative rispetto al gruppo 2.

Lo stesso andamento è stato riscontrato anche per i dati ecografici ottenuti con il TDI sia per il ventricolo destro che per il ventricolo sinistro in accordo con precedenti autori (Nestaas E *et al* 2014). Con tale metodica però i valori delle singole onde (Sm, Em ed Am) si sono assestati al di sotto dei valori di riferimento per età (Alp H 2012) in tutti i neonati asfittici (gruppo 1 e gruppo 2); in particolare nei neonati con encefalopatia di grado severo-moderato hanno raggiunto valori dell'onda sistolica Sm, a 6 h per il ventricolo destro e a 36 h per il ventricolo sinistro, significativamente più bassi rispetto al gruppo con encefalopatia lieve. Allo stesso modo dopo il riscaldamento ed in settima giornata, questi valori si sono allineati con i valori di normalità (Nestaas E *et al* 2014).

Per quanto riguarda la valutazione della funzionalità diastolica, le onde Em ed Am per entrambi i ventricoli sono risultate inferiori ai valori di normalità in tutti i bambini arruolati. Inoltre nel confronto fra i gruppi Em ed Am per il ventricolo sinistro ed Em per il ventricolo destro, a 6 h risultano significativamente inferiori nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2, così come il rapporto Em/Am per il ventricolo destro. In aggiunta però, a livello della mitrale i rapporti E/Eme Em/Am sono risultati significativamente inferiori nel gruppo 1 anche nel controllo a 7 giorni. Diversamente i valori di funzionalità diastolica valutati con le metodiche tradizionali sia per il ventricolo sinistro (MV E/A) che per il ventricolo destro (TV E/A) non hanno evidenziato differenze significative nei due gruppi e sono sempre risultati nei range della norma per età (Alp H 2012). Pertanto in maniera concorde con gli ultimi studi eseguiti (Wei *et al.* 2009, Matter *et al.* 2010) possiamo dire che la tecnica TDI sembra essere più sensibile rispetto alle metodiche ecografiche convenzionali permettendo di rilevare anche disfunzioni cardiache di grado lieve; sulla base dei nostri dati possiamo inoltre affermare che questa tecnica sembra darci una più sensibile valutazione oltre che della componente sistolica anche di quella diastolica rispetto all'ecocardiografia convenzionale, sia per il ventricolo sinistro che per il ventricolo destro. Tali valori infatti, per il ventricolo sinistro, rimangono sensibilmente inferiori anche a 7 giorni di distanza dall'evento asfittico, per poi normalizzarsi al controllo eseguito ad 1 mese di vita. Questo ci permette di affermare che nei

bambini con encefalopatia di grado severo-moderato sottoposti ad ipotermia sarebbe opportuna una valutazione della funzionalità cardiaca anche a distanza di qualche giorno dal riscaldamento.

Tra le misure bidimensionali ottenute in M-mode, il TAPSE si è dimostrato un buon indice di funzionalità sistolica per il ventricolo destro, risultando nel gruppo 1 inferiore ai valori di normalità per età (Koestenberg et al 2009) e significativamente più basso rispetto al gruppo 2.

I nostri dati mostrano inoltre che la concentrazione sierica di Troponina T nelle prime 24 ore dall'insulto asfittico, risulta più elevata nel gruppo 1, dove raggiunge valori molto superiori a quelli della norma, correlando con il grado di disfunzione miocardica riscontrata sia con l'ecocardiografia tradizionale che con la tecnica TDI; nel gruppo 2 i valori di troponina T sono risultati ai limiti inferiori della norma. Precedenti studi hanno dimostrato come i livelli di troponina T correlino con il grado di asfissia (Costa S *et al.* 2007, Gunes T *et al.* 2005) e con i dati strumentali di ischemia miocardica, in particolare con l'output del ventricolo sinistro (Costa S *et al.* 2007).

Nel confronto fra i due gruppi, le concentrazioni sieriche di pro-BNP sono risultate significativamente maggiori nel gruppo 1 a 7 giorni dall'evento asfittico. Tuttavia due pazienti di tale gruppo hanno presentato valori di pro-BNP circa cinquanta volte superiori alla media degli altri neonati appartenenti allo stesso gruppo. Rivalutando pertanto la storia clinica di questi pazienti abbiamo riscontrato che questo aumento significativo del pro-BNP era avvenuto contestualmente alla comparsa di emorragia intraventricolare di terzo grado bilaterale (successivamente trattata con intervento di derivazione ventricolo-peritoneale) in uno di essi, e di insufficienza renale acuta e scompenso cardiaco destro trattate con dialisi peritoneale, iNO, terapia diuretica ed inotropa massive nel secondo paziente. E' ipotizzabile pertanto che l'aumento importante delle concentrazioni di pro-BNP in questi due pazienti sia da considerarsi collegato a questi due eventi. Una recente review stabilisce infatti che il proBNP possa essere utilizzato nella diagnosi, nel monitoraggio clinico e nello screening di bambini con insufficienza cardiaca sia di origine congenita che secondaria (Cantinotti *et al.* 2014). Inoltre uno studio molto recente ha dimostrato che livelli sierici eccessivi di pro-BNP possono essere associati alla comparsa di edema cerebrale nella popolazione pediatrica, ipotizzando l'utilizzo di questo marker per la diagnosi precoce e per il monitoraggio terapeutico in bambini con edema cerebrale (Taskesen *et al.* 2016).

Non esistono studi precedenti che abbiano valutato l'outcome cardiaco a lungo termine in questa popolazione di neonati. Analizzando i nostri dati relativi al follow-up, tutti i neonati arruolati a 12 mesi hanno presentato parametri cardiaci nei limiti della norma per età sia all'ecocardiografia tradizionale che con il TDI, e non sono state riscontrate differenze significative, fra i due gruppi. Tuttavia è stata evidenziata una correlazione lineare tra i valori di troponina a 6h e a 12h ed il valore LVO a 12 mesi. Pertanto possiamo affermare che valori più elevati di troponina dopo l'insulto ipossico correlano negativamente con i valori di output ventricolare sinistro a 12 mesi. Tuttavia

occorreranno altri studi per stabilire la necessità di un follow-up a lungo termine in questa popolazione di pazienti.

Un limite del nostro studio è sicuramente dato dalla scarsa numerosità del campione, in parte dovuto alla relativa scarsa incidenza di questa patologia. Inoltre non è stato possibile arruolare nello studio un gruppo di controllo costituito da neonati sani, anche se tutti i parametri valutati sono stati confrontati con i valori di normalità per neonati sani riportati in letteratura.

Resta infine non chiaro il ruolo che l'ipotermia possa avere sull'outcome miocardico a lungo termine in questa popolazione di pazienti; durante il trattamento ipotermico l'azione depressiva data dal raffreddamento contribuisce ad una riduzione temporanea della funzionalità cardiaca (Nestaas E *et al* 2014), ma alcuni studi condotti sugli adulti suggeriscono che l'ipotermia possa preservare la funzione cardiaca dopo infarto miocardico acuto (Mottillo S. *et al.* 2011) riducendo la dimensione dell'area infartuata. Nel nostro studio i bambini che hanno effettuato ipotermia a 12 mesi hanno presentato valori simili a quelli della popolazione di bambini non raffreddati, nella norma per l'età. Questo dato tuttavia non ci permette di chiarire se l'ipotermia abbia avuto un ruolo protettivo nei confronti della funzionalità cardiaca di questi pazienti.

In conclusione possiamo affermare che la metodica TDI, associata all'ecografia tradizionale, fornisce una stima più sensibile della compromissione miocardica, sia per quanto riguarda la componente sistolica che diastolica di entrambi i ventricoli. Al TDI, in particolare, persistono segni di disfunzione diastolica a distanza di 7 giorni dall'evento asfittico. Questo ci permette di dire che sarebbe opportuno un controllo della funzionalità cardiaca anche a distanza di qualche giorno dal riscaldamento nei bambini con encefalopatia di grado severo-moderato sottoposti ad ipotermia. Per quanto riguarda la valutazione ecografica tradizionale, il TAPSE sembra avere una buona sensibilità nel riconoscere alterazioni della funzionalità sistolica destra in seguito all'evento asfittico. Data la facile reperibilità di tale parametro, la rapida lettura e la sua elevata riproducibilità riteniamo sarebbe opportuno introdurlo sempre nella valutazione ecografica funzionale in epoca neonatale. Relativamente ai markers sierici possiamo affermare che la troponina T rappresenta un buon indice di ischemia miocardica in acuto come già dimostrato in precedenti studi; è inoltre ipotizzabile che possa avere una buona predittività anche sull'outcome cardiaco a distanza (12 mesi di vita), ma sono necessari ulteriori studi.

4. BIBLIOGRAFIA

Alp H, Karaarslan S *et al* Normal values of left and right ventricular function measured by M-mode, pulsed Doppler and Doppler tissue imaging in healthy term neonates during 1-year period *Early Human Development* 88 (2012) 853-859

Alpert JS, Thygesen K, Antman E, *et al*. Myocardial infarction redefined – a consensus document of The Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:959–69

Armstrong K, Franklin O, Sweetman D, *et al*. Review: Cardiovascular dysfunction in infants with neonatal encephalopathy. *Arch Dis Child* 2012;97:372-375.

Barbieri I, Calabrò MP, Cordaro S, *et al*. Myocardial ischemia in neonates with perinatal asphyxia. Electrocardiographic, echocardiographic and enzymatic correlation. *Eur J Pediatr* 1999;158:742-747

Block BS, Schlafer DH, Wentworth RA. Intrauterine asphyxia and the breakdown of physiologic circulatory compensation in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162:1325-31

Cantinotti M, Law Y, Vittorini S, Crocetti M, Marco M, Murzi B, Clerico A. The potential and limitations of plasma BNP measurement in the diagnosis, prognosis, and management of children with heart failure due to congenital cardiac disease: an update. *Heart Fail Rev*. 2014 Nov;19(6):727-42.

Costa S, Zecca E, De Rosa G, *et al*. Is serum troponin T a useful marker of myocardial damage in newborn infants with perinatal asphyxia? *Acta Paediatr* 2007;96:181–4.

Dujardin KS, Tei C, Yeo TC, *et al*. Prognostic value of a Doppler index combining systolic and diastolic performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1998; 82:1071–1076.

El-Khuffash A, Molloy EJ. Are B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal-pro-BNP useful in neonates? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; 92: 320–4.

Evans N Which inotrope for which baby? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2006; 91: F213-F220

Gunes T , Ozturk MA *et al.* Troponin T levels in perinatally asphyxiated infants during the first 15 days of life. *Acta Paediatr* 2005; 94: 1638-43

Jacobs S, Hunt R, Tarnow-Mordi W, *et al.* Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD003311

Jedeikin R, Primhak A, Shennan AT, *et al.* Serial electrocardiographic changes in healthy and stressed neonates. *Arch Dis Child* 1983;58:605-11

Jensen A, Garbier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;84:155-72

Joshi S, Edwards JM, Wilson DG *et al.* Reproducibility of myocardial velocity and deformation imaging in term and preterm infants *Eur J Echocardiogf* 2010; 11:44-50

Kanik E, Ozer EA, Bakiler AR, Aydinlioglu H, Dorak C, Dogrusoz B, Kanik A, Yaprak I (2009) Assessment of myocardial dysfunction in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: is it a significant predictor of mortality? *J Matern Fetal Neonatal Med* 22:239-242

Kaul S , Tei C, Hopkins JM, Shah PM: Assessment of right ventricular function using two-dimensional echocardiography *Am Hear J* 1984, 107: 526-531

Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, *et al.* Systolic right ventricular function in preterm and term neonates: reference values of the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in 258 patients and calculation of Z-score values. *Neonatology* 2011;100 (1):85:92

Koestenberger M, Ravekes W, Everett A.D. *et al.* Right Ventricular Function in Infants, Children and Adolescents: Reference Values of the Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion (TAPSE) in 640 Healthy Patients and Calculation of z Score Values. *Journal of the American Society of Echocardiography* Vol 22:6.

Lakoumentas JA, Fotis K. Panou *et al.* The Tei index Myocardial Performance: applications in Cardiology. *Hellenic J Cardiol* 46: 52-58, 2005

Liu J, Li J, Gu M. The correlation between myocardial function and cerebral hemodynamics in term infants with hypoxic-ischemic encephalopathy *J. Trop Pediatr* 2007; 53: 44-8.

Matter M, Abdel-Hady H, Attia G, *et al.* Myocardial performance in asphyxiated fullterm infants assessed by Doppler tissue imaging. *Pediatr Cardiol* 2010 ; 31 : 634 – 42

Mertens L MD, Seri I MD *et al.* Writing Group of the American Society of Echocardiography (ASE) in collaboration with the European Association of echocardiography (EAE) and the Association of European Pediatric Cardiologist (AEPC) Targeted Neonatal Echocardiography in the Neonatal Intensive Care Unit: Practice Guidelines and recommendations for training *European Journal of Echocardiography* (2011) 12. 715-736

Montaldo P et al. Cardiac troponin I concentrations as a marker of neurodevelopmental outcome at 18 months in newborns with perinatal asphyxia. *Journal of Perinatology* 34, 292-295 (April 2014) | doi:10.1038/jp.2014.1

Mori K, Nakagawa R, Nii M *et al.* Pulsed wave Doppler tissue echocardiography assessment of the long axis function of the right and left ventricles during the early neonatal period. *Heart* 2004;90:175-180

Mottillo S, Sharma K, Eisenberg MJ. Therapeutic hypothermia in acute myocardial infarction : a systematic review. *Can J Cardiol* 2011

Negrine RJS, Chikermane A, Wright JGC, *et al.* Assessment of myocardial function in neonates using tissue Doppler imaging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* Ed 2010

Nestaas E et al. The myocardial function during and after whole-body therapeutic hypothermia for hypoxic–ischemic encephalopathy, a cohort study. *Early Human Development* 90 (2014) 247–252

Nir A, Lindinger A, Rauh M. *et al.* NT-Pro-B-type natriuretic peptide in infants and children: reference values based on combined data from four studies. *Pediatr Cardiol* 2009; 30:3-8.

Ori Hochwald, Mohammad Jabr *et al* Preferential Cephalic Redistribution of Left Ventricular Cardiac Output during Therapeutic Hypothermia for Perinatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy *J Pediatr* 2014;164:999-1004).

Patel N, Mills JF, Cheung MM. Assessment of right ventricular function using tissue Doppler imaging in infants with pulmonary hypertension. *Neonatology* 2009; 96:193–199

Quinones MA, Otto CM, Stoddard M *et al.* Recommendations for quantifications of Doppler echocardiography: a report from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2002;15:167-84

Reynolds EW, Ellington JG, Vranicar M, *et al.* Brain-type natriuretic peptide in the diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 2004;114:1297–304.

Rui Zhu, Zhenhong Nie. A Clinical Study of the N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide in Myocardial Injury after Neonatal Asphyxia. *Pediatrics and Neonatology* 2015, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedneo.2015.08.001>

Shah P, Riphagen S, Beyene J, Perlman M (2004) Multiorgan dysfunction in infants with post-asphyxial hypoxic-ischemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89; F152-F155

Shastri AT, Samarasekara S, Muniraman H, *et al.* Cardiac troponin I concentrations in neonates with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Acta Paediatrica* 2012;101:26-29.

Singla DK. Embryonic stem cells in cardiac repair and regeneration. *Antioxid Redox Signal* 2009 ; 11 : 1857 – 63

Sweetman D, Armstrong K, Murphy JFA, *et al.* Cardiac biomarkers in neonatal hypoxic ischemia. *Acta Paediatrica* 2012;101:338-343.

Taskesen M, Celik H, Yaramis A, Tas MA. Role and clinical significance of plasma N-Terminal Brain Natriuretic Peptide measurement in children with brain edema. *Neuropediatrics*. 2016 Jan;47(1):20-3. doi: 10.1055/s-0035-1566232. Epub 2015 Nov 16. PMID: 26569156

Wei Y, Xu J, Xu T, *et al.* Left ventricular systolic function of newborns with asphyxia evaluated by tissue Doppler imaging. *Pediatr Cardiol* 2009 ; 30 : 741 – 6 .

Weindling M, Paize F, Peripheral haemodynamics in newborns: best practice guidelines: *Early Hum Dev* 2010;86:159-65

Witthaut R. Science Review: natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care* 2004; 8: 342–9.