

Encefalopatia ipossico-ischemica nel neonato

Carla OTTAVIANO, Chiara De MARCHIS e Marcello ORZALESI

Divisione di Terapia Intensiva Neonatale, Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", Roma

Riassunto. - L'encefalopatia ipossico-ischemica è una delle maggiori cause di morte neonatale e disabilità neurologica nel bambino. L'incidenza stimata è di circa 1-2/1000 nati a termine e fino al 60% nei neonati prematuri di peso inferiore a 1500 grammi. Pur non potendo distinguere lesioni anatomico-patologiche esclusive del neonato a termine o pretermine, è noto che nel primo prevale l'interessamento della sostanza grigia cerebrale mentre nel secondo quello della sostanza bianca. Nei neonati più immaturi spesso il quadro è complicato dalla concomitante emorragia peri-intraventricolare. Tra i fattori che determinano la differente topografia del danno cerebrale ipossico-ischemico perinatale ricordiamo: l'intrinseca vulnerabilità di alcune cellule o regioni, fattori vascolari, natura e durata dell'insulto, età e maturità del neonato.

Parole chiave: asfissia perinatale, neonato pretermine, danno cerebrale, leucomalacia periventricolare, emorragia intraventricolare.

Summary (*Hypoxic-ischaemic encephalopathy in the newborn*). - Cerebral hypoxia-ischaemia occurring in the fetus and newborn is a major cause of acute mortality and chronic neurologic disability in survivors. Statistics suggest an incidence of systemic asphyxia in 1-2/1000 full-term infants and an incidence that approaches 60% in very low birth-weight newborns. Although the neuropathological features are not exclusively characteristic of full-term or preterm babies, it is well known that the gray matter is predominantly involved in the term baby while the white matter is damaged in the preterm newborn. In the premature infant encephalopathy is often accompanied by peri-intraventricular haemorrhage. The different distribution of neuropathologic lesions arising from perinatal hypoxia-ischaemia depend on several factors such as intrinsic cellular and regional vulnerability, vascular factors, nature and duration of the insult, age and maturity of the infant.

Key words: perinatal asphyxia, preterm newborn, cerebral damage, periventricular leukomalacia, intraventricular haemorrhage.

Definizione

Il termine ipossia (anossia) denota una parziale (o totale) carenza di ossigeno in uno o più tessuti del corpo incluso il sangue (ipossiemia, anossiemia). Il termine asfissia indica la condizione in cui gli scambi gassosi polmonari o placentari sono alterati conducendo progressivamente a ipossiemia e ipercapnia e successivamente bradicardia e ipotensione (asfissia: letteralmente mancanza di polso, di pressione sanguigna). L'ipossia moderata-severa è seguita da acidosi metabolica per accumulo di acido lattico derivante dal metabolismo anaerobio, mentre l'asfissia è generalmente associata con acidosi sia metabolica che respiratoria. L'ischemia è la riduzione o l'interruzione del flusso ematico conseguente a ipotensione o occlusione vasale. Nel feto o nel neonato l'ischemia è determinata o da precedenti ipossia-acidosi con effetto deprimente sul sistema cardiovascolare o da occlusione vascolare. Pertanto, nel neonato asfittico, l'ipossia e l'ischemia cerebrale vanno di pari passo e si parla in genere di danno ipossico-ischemico.

Introduzione

L'encefalopatia ipossico-ischemica è una delle maggiori cause di morte neonatale e disabilità neurologica nel bambino. L'incidenza stimata è di circa 1-2/1000 nati a termine [1, 2] e fino al 60% nei neonati prematuri di peso inferiore a 1500 grammi [3]. Una percentuale tra il 20 e il 50% dei neonati asfittici che sviluppano una encefalopatia ipossico-ischemica muoiono nel periodo neonatale, dei sopravvissuti circa il 25% presenta handicap neurologici maggiori (paralisi cerebrale, ritardo mentale, disturbi d'apprendimento, epilessia).

In generale le lesioni anatomico-patologiche (e i conseguenti esiti a distanza) sono differenti nel neonato a termine rispetto al pretermine. Nel primo prevale l'interessamento della sostanza grigia cerebrale (corteccia cerebrale, ippocampo, gangli della base, emisferi cerebellari), nel secondo è interessata prevalentemente la sostanza bianca. I fattori che determinano la differente topografia del danno cerebrale ipossico-ischemico perinatale sono di vario tipo:

intrinseca vulnerabilità cellulare o regionale, fattori vascolari, natura e durata dell'insulto, età e maturità del neonato, fattori contingenti come ipoglicemia, sepsi o malnutrizione.

In questa sede verranno schematicamente divise le lesioni in base alla loro maggiore frequenza nel neonato a termine o nel pretermine, ma, come sarà più volte sottolineato, si tratta di una divisione puramente didattica in quanto non solo non esistono quadri esclusivi di uno o dell'altro tipo, ma spesso si ha la coesistenza di varie lesioni.

Encefalopatia ipossico-ischemica nel neonato a termine

Le principali lesioni anatomico-patologiche nel neonato sono: necrosi neuronale selettiva, danno cerebrale parasagittale, necrosi cerebrale ischemica focale e multifocale e leucomalacia periventricolare. Queste lesioni verranno discusse separatamente benché normalmente non si verificano isolatamente.

Neuropatologia

Necrosi neuronale selettiva. - La necrosi neuronale selettiva è la lesione più comunemente osservata nell'encefalopatia ipossico-ischemica del neonato, anche quando non rappresenta la lesione preponderante nel quadro anatomico-patologico. Come espresso dal termine stesso, è il neurone la sede principale del danno. I primi cambiamenti sono delle vacuolazioni determinate dal rigonfiamento dei mitocondri che si notano tra i 5 e i 30 minuti dall'inizio dell'ipossia [4]. Nelle successive 24-48 ore subentrano alterazioni del reticolo endoplasmatico e del nucleo con picnosi o carioressi [5]. Nei 3-5 giorni seguenti si assiste al presentarsi di chiari segni di necrosi e si instaura un'astrocitosi. Nelle settimane successive i macrofagi spugnosi eliminano i detriti necrotici e si forma una matrice gliale. Lesioni molto gravi possono esitare in cavitazioni, specie nella corteccia cerebrale.

La topografia del danno neuronale dipende per lo più dalla severità e durata dell'insulto e dall'età gestazionale del neonato. Si possono distinguere 4 pattern principali:

1) *Danno diffuso:* si verifica per insulti severi e molto prolungati in neonati sia a termine che pretermine anche se per lo più in sedi diverse. I neuroni della corteccia cerebrale sono particolarmente vulnerabili, in particolare le cellule piramidali dell'ippocampo. Nel neonato a termine è l'area di Sommer la più delicata, nel pretermine il subicolo. Con insulti più gravi, nel neonato a termine, vengono poi compromessi i neuroni della corteccia visiva e peri-rolandica, fino a un interessamento diffuso della corteccia. I neuroni degli strati corticali più profondi ed in particolare della profondità dei solchi sono i più danneggiati. Questa topografia riflette probabilmente la

suscettibilità delle zone di confine vascolare. Per quanto riguarda le strutture nucleari profonde il talamo è coinvolto con uguale frequenza nel neonato a termine e nel pretermine e spesso lo è insieme ai nuclei della base, mentre i neuroni della testa del nucleo caudato e del putamen sono colpiti più frequentemente nel neonato a termine, laddove nel pretermine prevale l'interessamento del globo pallido. La combinazione di danno nel putamen e nel caudato è una tipica lesione asfittica del neonato, specialmente a termine. Caratteristico dell'encefalopatia ipossico-ischemica neonatale è il coinvolgimento del tronco-encefalo [6]. Nel neonato a termine la lesione sembra limitarsi ai neuroni, nel pretermine il danno può essere tanto grave da esitare in necrosi cistica. Nel mesencefalo particolarmente vulnerabile è il collicolo inferiore, nel ponte i nuclei motori del V e VII paio di nervi cranici, la formazione reticolare, i nuclei cocleari dorsali. Nel midollo allungato i nuclei dorsali del nervo vago, il nucleo ambiguo (IX e X paio di nervi cranici), nucleo olivare inferiore, gracile e cuneato. Nel pretermine è stata recentemente descritta l'associazione tra danno neuronale cerebellare e perdita neuronale nel nucleo olivare inferiore, forse per degenerazione retrograda transinaptica. Il cervelletto è particolarmente vulnerabile, in particolare nel neonato a termine le cellule del Purkinje e nel pretermine i neuroni dei granuli cellulari interni. Anche i neuroni del nucleo dentato sono più suscettibili che in altre età. Nel midollo spinale possono essere interessate le cellule delle corna anteriori con manifestazioni cliniche di ipotonia e debolezza fino a configurare i quadri della cosiddetta paralisi cerebrale atonica [7].

2) *Danno alla corteccia cerebrale e ai nuclei della base:* si verifica per insulti moderati-severi, gradualmente e prolungati, principalmente in neonati a termine. Interessa prevalentemente la neocortex, in particolare l'area parasagittale peri-rolandica e l'ippocampo, il putamen ed il talamo. Studi condotti con risonanza magnetica nucleare suggeriscono che questo sia il quadro predominante in circa il 35-65% dei neonati a termine asfittici [8].

3) *Danno ai nuclei della base e al tronco encefalico:* si verifica per insulti severi ed acuti principalmente in neonati a termine. Benché i neuroni dei nuclei della base ed il talamo siano coinvolti nei 2/3 dei neonati a termine asfittici, in circa il 15-20% il coinvolgimento dei nuclei della base, del talamo e del tronco-encefalo è predominante [9]. Una parte di questi casi con coinvolgimento massiccio della sostanza grigia profonda evolve nel cosiddetto stato marmorato, un disordine dei nuclei della base e del talamo che nonostante sia legato ad un insulto perinatale non si rende evidente fin verso la fine del primo anno di vita. Le alterazioni principali sono: perdita neuronale, gliosi e ipermielinizzazione. La ipermielinizzazione, che non è stata descritta prima degli 8 mesi, è la caratteristica distintiva di questa lesione cui conferisce il tipico aspetto "marmoreo". Un tempo si

pensava che le fibre abnormemente mielinizzate fossero assioni, con l'avvento della microscopia elettronica si è visto che, almeno in parte, si tratta di astrociti. Sembra dunque che l'encefalo molto giovane, al tempo in cui sta fisiologicamente mielinizzando alcune sue strutture, sia in grado di mielinizzare anche fibre non assoniche. Questo tipo di risposta sembra dipendere sia dal *timing* dell'insulto sia dalla topografia della lesione. Resta comunque sconosciuta la percentuale di neonati asfittici che sviluppano questa lesione e quali siano i fattori che determinano l'evoluzione verso gliosi e atrofia piuttosto che verso lo stato marmorato. E' stato ipotizzato che un insulto così grave da determinare la perdita sia dei neuroni che degli oligodendrociti possa solo evolvere in atrofia e gliosi senza possibilità di "ipermielinizzazione".

4) *Danno pontosubicolare*: tra i vari tipi di necrosi neuronale selettiva è il meno comune; si verifica per lo più nei neonati prematuri con un *timing* ancora da definire e riguarda prevalentemente la base del ponte e il subicolo dell'ippocampo; spesso si associa a leucomalacia periventricolare.

Danno cerebrale parasagittale. - E' una lesione tipica del neonato a termine caratterizzata da necrosi della corteccia cerebrale e della sostanza bianca sottocorticale immediatamente adiacente, con una caratteristica distribuzione "parasagittale", per lo più bilaterale e spesso simmetrica. A volte la necrosi può essere emorragica e nei casi più gravi estendersi nella corteccia cerebrale parieto-occipitale, esitando in atrofia.

Leucomalacia periventricolare. - Essendo una lesione più frequente nel neonato pretermine sarà trattata estesamente in seguito (vedi oltre).

Necrosi focale e multifocale. - Si tratta di una o multiple aree di necrosi localizzate nel territorio di distribuzione di una o più arterie cerebrali maggiori. Non sempre è facile distinguerle da lesioni determinate da una generale diminuzione del flusso ematico cerebrale (necrosi parasagittale, leucomalacia periventricolare) e spesso sembrano coesistere. Da studi anatomo-patologici è emerso che l'incidenza è del 5% tra le 28-32 settimane di età gestazionale, 10% tra le 32-37 settimane, 15% tra le 37 e le 40 settimane. In circa il 50% dei casi è coinvolta l'arteria cerebrale media, nei restanti casi sono interessati multipli piccoli vasi. Negli studi *in vivo* questa lesione si riscontra nel 20% dei neonati asfittici. In circa il 90% dei casi la lesione è unilaterale e tra le lesioni unilaterali pressoché tutte riguardano l'arteria cerebrale media. Di tutti i casi che coinvolgono l'arteria cerebrale media unilaterale il 75% riguarda la sinistra [10, 11].

Da un punto di vista microscopico si tratta di una necrosi di elementi cellulari con distribuzione tipicamente arteriosa, che compare tra le 18 e le 23 ore dopo l'insulto; poco dopo cellule monocito-

macrofagiche migrano dai vasi nella lesione e nel giro di 36-48 ore divengono macrofagi spugnosi. Dopo 3-5 giorni si ha iperplasia e ipertrofia degli astrociti che nell'arco di settimane o mesi formano un denso intreccio di fibrille. Frequente è l'esito in cavità cistiche.

Patogenesi

La condizione clinica in cui si verifica l'encefalopatia ipossico-ischemica è l'ischemia che in genere, ma non necessariamente è preceduta o accompagnata da ipossiemia. L'ipossiemia danneggia il sistema nervoso centrale principalmente causando disfunzione miocardica e perdita di autoregolazione del flusso ematico cerebrale, con conseguente ischemia. Il *timing* e la gravità dell'ipossia e dell'ischemia, nonché l'età gestazionale del neonato sono i principali determinanti della neuropatologia della lesione.

Le cause principali di grave ipossiemia nel periodo perinatale sono: asfissia, distress respiratorio, shunt destro-sinistro. Le cause principali di ischemia: grave ipossia di qualunque origine, asfissia intrauterina con acidosi e perdita della regolazione del flusso ematico cerebrale, insufficienza cardiocircolatoria.

I fattori che determinano la topografia del danno cerebrale ipossico-ischemico perinatale sono di vario tipo: 1) esiste una intrinseca vulnerabilità sia cellulare (neuroni > oligodendroglia > astrociti > microglia > vasi) che regionale (corteccia: strati 3, 5, 6; ippocampo, sostanza bianca: subcorticale e periventricolare; troncoencefalo: collicolo inferiore; cervelletto: strato cellulare di Purkinje); 2) fattori vascolari: nell'ipossia-ischemia sistemica le lesioni si localizzano nei territori di confine tra distretti vascolari, nell'occlusione vasale la lesione è localizzata a valle dell'ostruzione; 3) natura e durata dell'insulto: ipossia, ipossia-ischemia, ischemia; 4) età e maturità del neonato; 5) fattori contingenti: ipoglicemia, sepsi, malnutrizione.

Le ragioni della vulnerabilità di certi gruppi di neuroni nel sistema nervoso centrale sono diventate più chiare negli ultimi anni. Sicuramente fattori vascolari giocano un ruolo importante. Il danno neuronale è infatti più grave nella zone di confine tra distretti vascolari (ad esempio nella profondità dei solchi e nelle aree parasagittali); d'altra parte la stretta relazione che esiste tra la necrosi ponto-subicolare del prematuro e l'ipocapnia e l'iperossia sembra suggerire un ruolo importante della vasocostrizione in questa specifica lesione [12, 13]. Tuttavia la constatazione che il danno neuronale più selettivo non segua strettamente la distribuzione vascolare fa ritenere che siano in gioco altri fattori. Ad esempio la rapida maturazione e differenziazione dei neuroni nel ponte e nel subicolo al momento in cui si verifica l'insulto può rendere ragione della loro maggiore richiesta di energia, e della conseguente propensione verso l'apoptosi.

Per quanto riguarda le diverse suscettibilità regionali è possibile che siano legate a differenze metaboliche: capacità di glicolisi anaerobia, richieste energetiche, accumulo di lattato, funzione mitocondriale, flusso di calcio, sintesi di ossido nitrico, formazione di radicali liberi e capacità di neutralizzare gli stessi. Ad esempio le alte richieste energetiche della sostanza grigia profonda possono rendere ragione del perché queste zone siano particolarmente a rischio in caso di insulto ischemico improvviso e grave. Un ruolo hanno senz'altro anche le differenze recettoriali, in particolare per quanto riguarda i recettori del glutammato. Le zone che al momento dell'insulto ipossico-ischemico sono particolarmente ricche di sinapsi che usano come neurotrasmettitore il glutammato sono le più danneggiate, così come avviene, ad esempio, nel periodo perinatale per i gangli della base [14].

Esempi tipici di fattori vascolari come determinanti la topografia del danno sono offerti dalla leucomalacia periventricolare (vedi patogenesi oltre) e dal danno cerebrale in sede parasagittale che rappresenta la zona di confine tra i territori di irrorazione delle arterie cerebrali maggiori, e quindi la più suscettibile ai cali di flusso cerebrale, specialmente in sede posteriore.

L'occlusione vascolare e necrosi a valle è il meccanismo patogenetico principale nella necrosi ischemica focale e multifocale. Quale sia la causa che determina l'insufficiente o assente flusso in una arteria cerebrale maggiore rimane sconosciuto in circa il 50% dei casi, il 35% dei casi viene attribuito all'asfissia, nel rimanente 15% sono state trovate anomalie di sviluppo vascolare, vasculopatie, alterazioni della coagulazione, vasospasmo, distorsione vasale da trauma sul capo o sul collo, embolia e trombosi.

Diagnosi

Clinica. - Condizioni essenziali per la diagnosi di sofferenza perinatale sono: anamnesi positiva per sofferenza fetale (decelerazioni tardive al cardiogramma, liquido amniotico tinto di meconio, acidosi metabolica con $\text{pH} < 7,1$ e/o $\text{EB} \leq 10 \text{ mEq/l}$ nelle prime 2 ore di vita) depressione alla nascita con necessità di rianimazione, e sintomi neurologici precoci.

Il quadro clinico di un neonato che ha sofferto di ipossia-ischemia dipende dal *timing*, dalla severità e dalla durata dell'insulto e può variare dalla completa normalità fino alla presenza di segni e sintomi nell'immediato *post partum*. La sintomatologia neurologica del neonato a termine asfittico è stata classificata da Sarnat e Sarnat [15] in 3 stadi progressivi di gravità: asfissia lieve (iperecettibilità, veglia protratta, riflessi vivaci, tono normale o aumentato, midriasi, tachicardia), moderata (apatia, riflessi vivaci, ipotonia, convulsioni, miosi, bradicardia), grave (coma, riduzione o assenza di riflessi, flaccidità, raramente convulsioni, variabilità della

dilatazione pupillare, variabilità della frequenza cardiaca).

La stadiazione clinica alla nascita o subito dopo è fondamentale per determinare la severità del danno ipossico-ischemico, per iniziare il trattamento più appropriato e per stabilire la prognosi. Anche l'evoluzione, con il passaggio da uno stadio all'altro è un importante indice prognostico [16, 17].

A volte i neonati appaiono relativamente normali nelle prime ore di vita per poi peggiorare rapidamente quando insorgono le crisi convulsive, altre volte sono in uno stadio 2 o 3 subito dopo la nascita. L'attività convulsiva compare nel 50-70% dei neonati asfittici, specialmente a termine, e nella maggior parte dei casi nelle prime 24 ore con un esordio tanto più precoce quanto più è grave l'asfissia. Quelli che sopravvivono mostrano un miglioramento nei giorni o nelle settimane seguenti, il tempo impiegato per il recupero delle normali funzioni neurologiche è anch'esso un fattore prognostico a lungo termine.

Oltre alle disfunzioni neurologiche, in circa il 50% dei casi l'asfissia determina alterazioni multi-organo riguardanti il rene, il cuore, i polmoni, l'intestino, con conseguenti alterazioni metaboliche quali ipoglicemia, ipocalcemia, alterazioni idro-elettrolitiche, iperammionemia, che contribuiscono ad aggravare le condizioni di un sistema nervoso già compromesso.

Strumentale. - *EEG:* nel grado 1 della classificazione di Sarnat e Sarnat l'EEG è normale sia nella veglia che nel sonno attivo e calmo, il ciclo del sonno è presente mentre la durata degli stati è alterata. Nel grado 2 il tracciato è di basso voltaggio, caratterizzato da ritmi con frequenza variabile dalla banda delta alla beta, a volte è del tipo "basso voltaggio più grafoelementi patologici", il ciclo del sonno è presente ma spesso alterato, frequenti le crisi elettrocliniche. Nel grado 3 il tracciato è prevalentemente inattivo o parossistico, il ciclo del sonno è assente e sono presenti crisi con dissociazione elettroclinica. Per quanto riguarda la prognosi questa è favorevole per il grado 1, gravissima per il grado 3 in cui le caratteristiche del tracciato riflettono una necrosi neuronale corticale diffusa, mentre per il grado 2 è favorevole se i segni clinici ed EEG tornano nella norma entro 5-7 giorni [18].

Una forma semplificata di elettroencefalogramma, con soli 2 canali, può essere ottenuta in continuo con il *cerebral function monitor*. Nonostante questa tecnica possa rilevare solamente le alterazioni maggiori dell'attività elettrica cerebrale (tracciato piatto, di basso voltaggio, *burst suppression*, crisi convulsive), senza possibilità di studiare le varie zone cerebrali, offre l'incommensurabile vantaggio di poter essere eseguita nell'arco delle 24 ore e di rilevare quindi in tempo reale non solo eventuali cambiamenti dell'attività elettrica ma anche il controllo della terapia sulle crisi elettriche o in neonati curarizzati.

Neuroimmagini: l'ecografia transfontanellare è molto utile nell'individuare le lesioni dei gangli della base, del talamo, la leucomalacia periventricolare, e danni ischemici focali e multifocali, ma non è in grado di rilevare lesioni corticali o del tronco encefalo in quanto spesso molto piccole o comunque troppo periferiche. D'altro canto la TAC, che pur non essendo eseguibile al letto del paziente, richiede comunque dei tempi relativamente brevi per l'acquisizione delle immagini, fornisce importanti informazioni anche riguardo il danno corticale nella necrosi neuronale selettiva, ma il suo valore è massimo diverse settimane dopo l'insulto.

L'indagine sicuramente più accurata per dovizia di particolari, e più precoce nello stabilire l'entità del danno è la risonanza magnetica nucleare sia tradizionale ma soprattutto con le nuove applicazioni in spettroscopia e diffusione. Queste nuove applicazioni infatti non solo consentono una maggiore sensibilità nell'individuazione del danno ma permettono di anticipare l'indagine alle prime ore di vita consentendo di formulare una prognosi tanto accurata quanto precoce. La risonanza magnetica in spettroscopia ($^1\text{H-MRS}$) è stata utilizzata per studiare i cambiamenti biochimici associati con il danno cerebrale. In particolare la $^1\text{H-MRS}$ può rilevare metaboliti quali: N-acetilaspargato (NAA) che rappresenta essenzialmente un marker neuronale; creatina (Cr) e fosfocreatina che sono marker energetici; Colina (Cho) che viene rilasciata a seguito di un danneggiamento delle membrane e lattato (Lac) che si accumula in risposta a metabolismo anaerobico [19, 20].

Prognosi

L'*outcome* di neonati con grave sofferenza perinatale è tuttora uno dei più difficili interrogativi con cui si confronta il neonatologo; sono stati studiati pertanto sia singolarmente che associati il valore prognostico di: indice di Apgar, emogasanalisi entro le prime 2 ore di vita, decorso clinico, esame neurologico, elettroencefalogramma, potenziali evocati, neuroimmagini, determinazione del flusso ematico cerebrale, monitoraggio della pressione intracranica. In questa sede ci occuperemo essenzialmente dell'andamento clinico e delle principali indagini strumentali.

Alcuni aspetti della sindrome neurologica neonatale sono particolarmente utili per formulare una prognosi: la gravità della sintomatologia, la presenza e il tempo di insorgenza delle convulsioni, la durata delle anomalie neurologiche.

Neonati con sindrome neurologica lieve hanno in genere un recupero completo, quelli con la forma grave o muoiono (80%) o presentano deficit (20%). Pur non essendo chiaro se le convulsioni di per sé aggravino il danno cerebrale o siano l'espressione di una maggiore compromissione, quando si verificano il rischio di

sequele aumenta di 2-5 volte, tanto più quanto più precoce è l'insorgenza. Per quanto concerne la durata dei sintomi è esperienza comune che il neonato che presenta una sindrome neurologica che dura meno di 1-2 settimane ha ottime probabilità di avere uno sviluppo normale nei primi anni di vita, anche se poco è noto riguardo alla performance in età scolare [21, 22].

Oltre al quadro clinico molte informazioni utili per formulare la prognosi possono essere date dalle indagini strumentali: il tipo di tracciato elettroencefalografico e le sue modifiche nel corso dei giorni, come già citato sopra, sono uno strumento di grande valore considerato anche la facilità di esecuzione al letto del paziente. Per quanto riguarda le neuroimmagini sicuramente l'ecografia cerebrale è la tecnica più utilizzata soprattutto per la possibilità di esecuzione al letto del paziente, rapidità, basso costo e innocuità, anche se non è sicuramente la tecnica appropriata per lo studio di quelle zone che frequentemente sono danneggiate nel neonato a termine quali la corteccia cerebrale o il tronco encefalo. Sicuramente più precise sono la TC e la RMN, in particolare quest'ultima, anche se richiede tempi più lunghi di esecuzione, offre senz'altro le neuroimmagini più affidabili e con le nuove applicazioni in spettroscopia e in diffusione mostra sin dalle prime ore di vita un quadro fedele di quello che è il danno e aiuta nel formulare la prognosi a distanza.

Alcuni studi hanno dimostrato una diminuzione del rapporto NAA/Cho e NAA/Cr e un aumento del rapporto Cho/Cr in neonati asfittici con gravi deficit dello sviluppo all'età di 1 anno. Inoltre sono stati dimostrati un aumento del lattato e una diminuzione del NAA nel talamo e un aumento del lattato e una riduzione della Cr nei gangli della base dei neonati asfittici [19, 20].

Encefalopatia ipossico-ischemica nel neonato pretermine

Il danno cerebrale ipossico-ischemico nel pretermine differisce da quello del neonato a termine da un punto di vista neuropatologico e fisiopatologico in relazione al differente grado di maturazione sia del tessuto cerebrale che del letto vascolare. Nel pretermine le lesioni cerebrali predominanti sono: 1) l'emorragia della zona germinativa, 2) l'emorragia intraventricolare, 3) l'emorragia parenchimale, 4) la leucomalacia periventricolare.

Nei neonati prematuri una zona di confine tra letti vascolari è localizzata nella sostanza bianca periventricolare adiacente ai margini esterni dei ventricoli laterali. Queste zone sono situate tra 3 e 10 mm dalla parete del ventricolo laterale tra i rami terminali delle arterie "centrifughe" che partono dal plesso corioideo e le arterie "centripete" che originano sulla superficie dell'encefalo. Il numero dei vasi centrifughi cresce con l'età gestazionale, la loro relativa esiguità

nel neonato pretermine rende ragione della vulnerabilità di questa zona al danno ischemico. La relativa salvaguardia della corteccia cerebrale nel prematuro potrebbe essere dovuta alla presenza di una ricca rete di anastomosi tra le arterie meningee e le cerebrali anteriore, media e posteriore. Queste anastomosi, particolarmente prominenti nel pretermine, tendono a diminuire con l'età gestazionale fino a una pressoché completa scomparsa a termine di gravidanza.

Neuropatologia

La matrice germinativa è un'area gelatinosa localizzata nella zona periventricolare tra il nucleo caudato e il talamo a livello del forame di Monro o appena posteriormente a questo. È formata da una ricca rete di vasi le cui pareti sono composte da un singolo strato endoteliale, senza cellule muscolari lisce, elastina o collagene. Queste cellule endoteliali contengono un gran numero di mitocondri e hanno un metabolismo ossidativo particolarmente attivo. All'interno della matrice sono contenute cellule precursori dei neuroni e della glia. Benché i neuroni siano già migrati prima della ventiseiesima settimana, la matrice germinativa continua ad essere una struttura prominente fino alla trentaquattresima settimana di gestazione e cellule gliali primitive possono essere riscontrate nella matrice fino quasi a termine. La sua irrorazione arteriosa è garantita dalla arteria di Heubner (ramo della cerebrale anteriore), dalle arterie striate laterali (rami della cerebrale media) e dall'arteria corioidea anteriore (ramo della carotide interna). Il sangue venoso viene drenato nella vena di Galeno.

Emorragia subependimale. - Il sanguinamento nelle emorragie intraventricolari generalmente comincia dalla rete capillare della matrice germinativa subependimale, benché nel neonato a termine e in circa il 10% dei neonati pretermine possa originare dal plesso corioideo. Il sito dell'emorragia nella matrice germinativa tende a variare con l'età gestazionale. In neonati con età gestazionale inferiore alle 28 settimane il sanguinamento avviene nella zona sopra il corpo del nucleo caudato, in neonati più maturi il sito principale è a livello della testa del nucleo caudato, vicino al forame di Monro. Studi su animali hanno dimostrato un parallelo andamento caudo-craniale della quantità di flusso ematico, delle richieste metaboliche e dell'involuzione della matrice germinativa che possono giustificare la diversa topografia delle lesioni alle varie età gestazionali [24].

L'esito neuropatologico di una emorragia isolata della matrice germinativa è una lesione cistica. Benché sia lecito supporre che la distruzione delle cellule gliali prima della loro migrazione possa alterare la normale citoarchitettura cerebrale, ad oggi non è possibile attribuire sequele cliniche a lungo termine a questo tipo di lesione.

Emorragia intraventricolare. - L'emorragia intraventricolare si verifica quando il sangue accumulatosi nell'emorragia della matrice germinativa irrompe nel ventricolo laterale attraverso l'ependima. Il sangue stravasato si spande nel sistema ventricolare, innesca una aracnoidite e se l'emorragia è massiva può formare grossi coaguli all'interno dei ventricoli.

La dilatazione acuta del sistema ventricolare è una complicazione relativamente frequente (circa il 50% dei neonati che sopravvivono), ma la nella maggior parte dei casi si risolve spontaneamente o rimane stabile. La causa di questa dilatazione è da ricercare nella compromissione del riassorbimento del liquor secondario ad un "intasamento" dei villi aracnoidei da parte di materiale corpuscolato del sangue o da veri e propri coaguli [25].

La conseguenza più importante dell'emorragia intraventricolare è l'idrocefalo post-emorragico che si verifica in circa il 25% dei casi. L'idrocefalo può essere comunicante o non comunicante. Nel secondo tipo l'ostruzione dell'acquedotto di Silvio, del forame di Monro o dei forami di Luschka e Magendie da parte di coaguli impedisce la circolazione del liquor. In questi casi la dilatazione ventricolare è generalmente rapida e l'idrocefalo è clinicamente evidente in circa 2 settimane dall'emorragia. L'idrocefalo comunicante può essere secondario ad una aracnoidite obliterativa nella fossa cranica posteriore, o ad un impedimento al riassorbimento del liquor ovunque nel sistema liquorale ad opera di coaguli o materiale corpuscolato derivato dal sanguinamento. Il decorso clinico è per lo più lento e un vero e proprio idrocefalo può non rendersi clinicamente evidente fino a diverse settimane dopo l'emorragia.

Emorragia parenchimale. - È un sanguinamento che coinvolge anche la sostanza bianca periventricolare e che esita in cisti poroencefalica. Benché si verifichi solo nel 10-15% dei neonati con emorragia è una causa importante di sequele a lungo termine.

L'esatta natura dell'emorragia parenchimale non è nota tuttavia sono ipotizzabili almeno due meccanismi. Molti studi di anatomia patologica hanno dimostrato che la causa più comune è un infarcimento emorragico probabilmente determinato dall'aumento della pressione venosa nella sostanza bianca periventricolare, secondario all'ostruzione al deflusso venoso nelle vene che attraversano la matrice germinativa derivante dall'ematoma subependimale. Anche l'emorragia intraventricolare può avere un ruolo sia ostacolando l'afflusso di sangue alla sostanza bianca periventricolare, rendendola così più vulnerabile, sia mediante il rilascio di mediatori vasoattivi [26].

Qualunque sia la patogenesi, è ormai noto che l'emorragia parenchimale periventricolare non è una semplice estensione dell'emorragia subependimale o intraventricolare quanto piuttosto una diretta conseguenza.

Leucomalacia periventricolare. - La leucomalacia periventricolare è una lesione ischemica che porta alla formazione di aree di necrosi nella sostanza bianca periventricolare. Si può presentare in forma focale o diffusa. Nel primo caso sono coinvolte prevalentemente le regioni adiacenti agli angoli esterni dei ventricoli laterali e la lesione inizia come aree focali di necrosi coagulativa seguite da proliferazione di astrociti e macrofagi e formazione di aree gliotiche o cistiche. Nei casi più gravi le aree cistiche diventano particolarmente evidenti. Nel secondo caso la sostanza bianca è diffusamente ma meno gravemente danneggiata, e tende ad assottigliarsi con secondario ampliamento dei ventricoli laterali, senza esitare in cisti. Poiché l'area coinvolta comprende la sostanza bianca attraverso cui passano le vie discendenti dalla corteccia motoria, ed essendo le vie motorie per gli arti inferiori le più vicine ai ventricoli laterali, ne consegue che l'esito neuromotorio più frequente è la diplegia spastica. Tanto più la lesione è estesa in senso laterale, tanto più sarà frequente il coinvolgimento anche degli arti superiori, configurando il quadro della quadriplegia spastica. Un'altra possibile conseguenza sono i deficit visivi per interessamento delle radiazioni ottiche.

L'incidenza della leucomalacia periventricolare non è nota. Anche se una percentuale variabile tra il 25 e il 75% dei neonati con peso molto basso alla nascita (VLBW) che muoiono hanno lesioni leucomalaciche riscontrate al tavolo autoptico, l'incidenza tra i sopravvissuti, stimata tra il 5 e 10%, non è certa. Infatti studi comparativi tra ecografie cerebrali transfontanelari e autopsie hanno dimostrato che solo il 30-40% delle lesioni leucomalaciche sono diagnosticate prima del decesso [27, 28]. Le tecniche ultrasonografiche attuali pertanto non sono sufficientemente sensibili per identificare tutti i bambini con leucomalacia periventricolare ed in effetti sono in grado di rilevare solo le lesioni più gravi. Pur tuttavia è chiaro che la lesione si riscontra prevalentemente nei neonati: 1) prematuri; 2) sopravvissuti più di qualche giorno; 3) con emorragia intraventricolare; 4) affetti da distress respiratorio; 5) con anamnesi ostetrica positiva per infezioni materne-placentari-fetali. Il caratteristico reperto ultrasonografico è rappresentato da ecodensità lineari adiacenti agli angoli esterni dei ventricoli laterali che dopo diverse settimane evolvono in areole cistiche che possono poi scomparire e lasciare il posto alla dilatazione ventricolare.

Diversamente dall'emorragia peri-intraventricolare la leucomalacia periventricolare spesso si manifesta dopo la prima settimana di vita. Poiché non esiste un *timing* ottimale per poterla rilevare è comunque raccomandato che neonati VLBW eseguano un'ecografia cerebrale in prossimità della dimissione e se presentano lesioni cistiche o aumento di volume dei ventricoli cerebrali

devono essere sottoposti ad attento follow up neurocomportamentale per paralisi spastica, deficit visivi e ritardo mentale.

Patogenesi

E' ormai noto che due fattori, la prematurità e l'insufficienza respiratoria acuta che richiede ventilazione meccanica, sono fortemente associati a emorragia peri-intraventricolare.

La prematurità è condizione essenziale perché si abbia la presenza di una matrice germinativa metabolicamente attiva e riccamente vascolarizzata, ed inoltre è noto che circa il 12% dei VLBW sani presentano emorragie della matrice germinativa. Il ruolo dell'insufficienza respiratoria è probabilmente legato alle alterazioni del flusso ematico cerebrale secondarie all'ipossia, all'ipercapnia e al danno ipossico-ischemico dell'endotelio della matrice germinativa.

Altri eventi neonatali quali il pneumotorace, l'ipotensione, l'acidosi, i disturbi della coagulazione, l'espansione della volemia, l'infusione di bicarbonato, il trasporto, sono stati correlati con un rischio aumentato di emorragia, ma queste condizioni forse riflettono più la gravità del neonato e la necessità di trattamenti aggressivi piuttosto che un rapporto di causa-effetto con l'emorragia.

L'ipotesi prevalente basata sugli studi neuroanatomici di Hambleton e Wigglesworth [29] è che alterazioni della pressione arteriosa e del flusso ematico nel letto vascolare immaturo della matrice germinativa possano iniziare il sanguinamento. Due meccanismi sono stati proposti. Il primo prevede che la vasodilatazione cerebrale secondaria all'ipossia e alla ipercapnia porti ad un iperafflusso nel letto capillare della matrice germinativa con incremento della pressione e conseguente rottura dei capillari. Il secondo presuppone che sia l'ipotensione ad alterare l'integrità vascolare, tanto che un successivo incremento della pressione arteriosa possa comportare un versamento dai capillari già lesionati [30]. Entrambi questi meccanismi presuppongono uno scarso controllo dell'autoregolazione del flusso ematico cerebrale che è noto avvenire per un intervallo ristretto di variazioni di pressione nel neonato prematuro. L'ossigeno e l'anidride carbonica sono potenti regolatori del flusso ematico cerebrale. In particolare l'ipossia e l'ipercapnia causano un marcato incremento del flusso cerebrale mentre l'iperossia e l'ipocapnia hanno un effetto opposto anche se meno drammatico. Il flusso ematico cerebrale risponde all'ipossia quando la pressione parziale di ossigeno scende a valori estremamente bassi (12-15 mm Hg), mentre la regolazione con la Pa CO₂ avviene per valori fisiologici. L'ipossia e l'ipercapnia possono reversibilmente soprafare i meccanismi di regolazione del flusso ematico cerebrale legati alla pressione e in queste circostanze il flusso cerebrale diventa "passivo" alle

fluttuazioni di pressione, pertanto piccole variazioni della pressione arteriosa possono scatenare l'emorragia.

Per quanto riguarda la leucomalacia periventricolare, oltre a ricordare l'intrinseca vulnerabilità della sostanza bianca periventricolare, in particolare dei giovani e non ancora completamente differenziati oligodendrociti del prematuro, bisogna tenere presente che le zone che più risentono delle fluttuazioni dell'irrorazione cerebrale sono le cosiddette zone di confine. La vascolarizzazione dell'encefalo del prematuro è assicurata dai rami penetranti lunghi e corti che dalla superficie della pia madre arrivano rispettivamente nella sostanza bianca della zona profonda periventricolare e nella porzione più sottocorticale. Si tratta di rami terminali che derivano prevalentemente dalla arteria cerebrale media e in minore misura dalle cerebrali anteriore e posteriore e che si sviluppano nell'ultimo trimestre di gravidanza. La capacità di resistere all'insulto dipende essenzialmente dallo stato di sviluppo di questa vascolarizzazione ed è proporzionale perciò all'età gestazionale.

Diagnosi

Clinica. - L'identificazione clinica del neonato prematuro asfittico è più difficile rispetto al neonato a termine a causa dell'imaturità funzionale del sistema nervoso centrale, tanto che segni clinici che indicano depressione del sistema nervoso centrale del neonato a termine possono rappresentare il fisiologico livello di maturazione di un pretermine. In particolare tanto più un neonato è prematuro, tanto più sarà ipotensivo, meno vigile e meno saranno sviluppati i riflessi arcaici. Sulla base di scale di valutazione neurologica dei neonati prematuri il clinico può stabilire se il tono muscolare attivo e passivo, gli stati comportamentali, e i riflessi siano o meno adeguati all'età gestazionale, identificando così anche nel pretermine i segni precoci di una encefalopatia ipossico-ischemica [31, 32].

Prima dell'avvento della tomografia computerizzata e dell'ecografia, la diagnosi dell'emorragia periventricolare veniva effettuata sulla base di una serie di segni clinici ritenuti specifici di emorragia. Erano descritti due andamenti clinici: catastrofico e saltatorio. Il primo caratterizzato da un rapido deterioramento delle condizioni generali con ipotensione, apnee, acidosi metabolica, fontanella anteriore tesa, e rapido *exitus*, il secondo in cui ad un repentino peggioramento clinico faceva seguito un miglioramento e il ciclo si ripeteva varie volte nelle 48 ore successive fino al raggiungimento definitivo della stabilità o della morte. Con l'avvento delle neuroimmagini è stato ormai accertato che questi segni non sono specifici di emorragia periventricolare e inoltre circa il 50% dei neonati prematuri con emorragia peri-intraventricolare non mostrano affatto segni così eclatanti [33].

Strumentale. - *EEG:* l'elettroencefalogramma dovrebbe essere eseguito in ogni neonato con sospetto di encefalopatia ipossico-ischemica. In particolare è utile per confermare o escludere la presenza di crisi convulsive e attraverso lo studio dell'attività di fondo di stabilire la prognosi a distanza. In assenza di crisi elettriche o cliniche infatti un tracciato tipo *burst-suppression* o di basso voltaggio è foriero di un *outcome* neurologico sfavorevole; alterazioni meno importanti dell'attività di fondo che persistono meno di una settimana sono invece associate ad una prognosi più benigna.

Per quanto riguarda la leucomalacia periventricolare ricordiamo che è possibile individuare quelle ecodensità periventricolari che esisteranno in lesioni cistiche sulla base del reperto caratteristico di punte rolandiche positive.

Neuroimmagini: nel neonato pretermine l'ecografia cerebrale transfontanellare offre l'incommensurabile vantaggio di poter essere eseguita agevolmente al letto del paziente, di essere in grado di studiare adeguatamente proprio quelle zone ove per ragioni anatomiche si manifesta maggiormente il danno ipossico-ischemico e di usare gli ultrasuoni e non le radiazioni ionizzanti. Alcune limitazioni sono date dalla difficoltà di distinguere piccole emorragie subependimali da emorragie della matrice germinativa, di diagnosticare piccole quantità di sangue nei ventricoli laterali, soprattutto se si mantengono di dimensioni normali e dalla qualità dell'immagine ottenibile. La TC può essere utile per distinguere la natura emorragica o ischemica delle lesioni ipercogene adiacenti ai ventricoli laterali ed al terzo ventricolo anche se il tempo di comparsa, soprattutto nel neonato pretermine, ci può essere di aiuto, essendo probabilmente emorragica una lesione che compare nei primi due giorni di vita ed ischemica quella che compare da giorni fino a settimane dopo la nascita.

Prognosi

Emorragia piccola (gradi 1 e 2 secondo Papile). - Il sanguinamento è solo a carico della matrice germinativa o irrompe anche nei ventricoli occupandone non più del 10% del volume (grado 1) o fino al 50%, senza distenderli. L'*outcome* neurocomportamentale di questi bambini è simile ai pretermine di pari età gestazionale senza emorragia: circa il 10% ha deficit maggiori, prevalentemente una diplegia spastica. In età prescolare presentano però una minore coordinazione visuo-motoria, pertanto sono più a rischio per disturbi dell'apprendimento in età scolare [35].

Emorragia moderata (grado 3 secondo Papile). - L'emorragia interessa estesamente i ventricoli (più del 50% del volume) causandone la dilatazione. Circa il 40% presenta deficit neurologici maggiori sia motori (diplegia e quadriplegia) che cognitivi. Nelle prime classi

elementari circa il 50% ha bisogno di un insegnante di sostegno, e la percentuale sale nelle età successive.

Emorragia severa (grado 4 secondo Papile). - L'emorragia interessa il parenchima cerebrale. Circa l'80% manifesta deficit neurologici maggiori. Tra i disturbi motori l'emiparesi controlaterale al lato dell'emorragia è il più frequente.

Idrocefalo post-emorragico. - L'*outcome* dei bambini con idrocefalo comunicante che rispondono al trattamento con punture lombari seriate è lo stesso dei bambini con pari grado di emorragia senza dilatazione ventricolare [35]. Quelli con idrocefalo ostruttivo che richiede intervento chirurgico hanno una prognosi meno favorevole, con un rischio circa doppio di deficit maggiori. L'intervento stesso di derivazione ventricolo-peritoneale è gravato da una discreta mortalità (5-10%) nel post-operatorio, e tra i sopravvissuti il 70% andrà in contro ad infezioni della valvola o malfunzionamenti [36]. Al momento attuale sembra che le emorragie periventricolari di grado moderato-grave siano predittive di *outcome* sfavorevole. Molto probabilmente non è l'emorragia di per sé a causare i danni quanto piuttosto le lesioni macroscopiche (leucomalacia) o microscopiche e funzionali (attualmente non diagnosticabili con le moderne tecniche di neuroimmagini) ad essa associate.

Trattamento

Lo scopo principale è mantenere adeguate perfusione e ventilazione. Tutti gli sforzi vanno diretti al mantenimento di valori normali di PaO₂, PaCO₂, pH, osmolarità, glicemia, e un'adeguata pressione sistemica. Questo comporta un uso ponderato di colloidali e cercare di ridurre al minimo tutti quegli eventi che causano fluttuazioni della pressione arteriosa quali apnee, pneumotorace, agitazione, procedure dolorose, manovre di accudimento, infusioni endovenose.

L'emorragia intraventricolare di per sé non richiede nessun trattamento. In passato è stato tentato un approccio terapeutico con punture lombari successive nell'intento di evacuare il sangue e ridurre così l'incidenza di idrocefalo post-emorragico, ma senza successo [34].

Il trattamento dell'idrocefalo post-emorragico progressivo include, l'esecuzione di punture lombari, la somministrazione di farmaci che riducono la produzione di liquor, la ventricolostomia e lo shunt ventricolo-peritoneale. La risposta a questi trattamenti dipende essenzialmente dal tipo di idrocefalo. Nel caso dell'idrocefalo non comunicante o ostruttivo con rapida dilatazione ventricolare e ipertensione endocranica le punture lombari non sono risolutive. Benché in questi casi la terapia definitiva sia rappresentata dalla

derivazione ventricolo-peritoneale, se il bambino è troppo piccolo o non è in condizioni di subire questo intervento si può temporaneamente inserire un *reservoir* ventricolare da cui eseguire punture quotidianamente. Nell'idrocefalo comunicante la dilatazione è lenta e progressiva e non comporta ipertensione endocranica. In questi casi è raccomandata l'esecuzione di punture lombari e il tentativo con farmaci che riducono la produzione di liquor. Durante il trattamento è necessario un controllo con ecografia cerebrale settimanale per verificare il buon esito della terapia, al termine del trattamento il monitoraggio va proseguito per diverse settimane.

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 5 novembre 2001.

BIBLIOGRAFIA

1. Thornberg E, Thiringer K, Odeback A, Milsom I. Birth asphyxia: incidence, clinical course and outcome in a Swedish population. *Acta Paediatr* 1995;84:927-32.
2. Hull J, Dodd KL. Falling incidence of hypoxic-ischaemic encephalopathy in term infants. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:386-91.
3. Ergander U, Eriksson M, Zetterstrom R. Severe neonatal asphyxia. *Acta Paediatr Scand* 1983;72:321-5.
4. Levy DE, Brierley JB, Silverman DG, Plum F. Brief hypoxia-ischemia initially damages cerebral neurons. *Arch Neurol* 1975; 32:450-6.
5. Edwards AD, Yue X, Cox P, Hope PL, Azzopardi DV, Squier MV *et al*. Apoptosis in the brains of infants suffering intrauterine cerebral injury. *Pediatr Res* 1997;42:684-9.
6. Leech RW, Alvord EC Jr. Anoxic-ischemic encephalopathy in the human neonatal period: the significance of brain stem involvement. *Arch Neurol* 1977;34:109-13.
7. Clancy RR, Sladky JT, Rorke LB. Hypoxic-ischemic spinal cord injury following perinatal asphyxia. *Ann Neurol* 1989;25:185-9.
8. Martin E, Barkovich AJ. Magnetic resonance imaging in perinatal asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1995;72:F62-70.
9. Natsume J, Watanabe K, Kuno K, Hayakawa F, Hashizume Y. Clinical, neurophysiologic, and neuropathological features of an infant with brain damage of total asphyxia type (Myers). *Pediatr Neurol* 1995;13:61-4.
10. Barmada MA, Barmada MA, Moossy J, Shuman RM. Cerebral infarcts with arterial occlusion in neonates. *Ann Neurol* 1979; 6: 495-502.
11. de Vries LS, Groenendaal F, Eken P, van Haastert IC, Rademaker KJ, Meiners LC. Infarcts in the vascular distribution of the middle cerebral artery in preterm and fullterm infants. *Neuropediatrics* 1997;28:88-96.
12. Hashimoto K, Hashimoto K, Takeuchi Y, Takashima S. Hypocarbica as a pathogenetic factor in pontosubicular necrosis. *Brain Dev* 1991;13:155-7.

13. Ahdab-Barmada M, Moosy J, Nemoto EM, Lin MR. Hyperoxia produces neuronal necrosis in the rat. *J Neuropathol Exp Neurol* 1986;45:233-46.
14. Johnston MV. Neurotransmitter and vulnerability of the developing brain. *Brain Dev* 1995;17:301.
15. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress: a clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol* 1976;33:696-705.
16. Amiel-Tison C, Ellison P. Birth asphyxia in the full term newborn: early assessment and outcome. *Dev Med Child Neurol* 1986;28:671-82.
17. Lipper EG, Voorhies TM, Ross G, Vannucci RC, Auld PA. Early predictors of one-year outcome for infants asphyxiated at birth. *Dev Med Child Neurol* 1986;28:303-9.
18. Allemand F *et al*. Encefalopatia ipossico-ischemica neonatale di grado medio: follow-up a due anni. *Riv Ital Ped* 1983;9:227.
19. Huppi PS, Lazeyras F. Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (H-MRS) in neonatal brain injury. *Pediatr Res* 2001;49:317-20.
20. Amess PN, Penrice J, Wylezinska M, Lorek A, Townsend J, Wyatt JS. Early brain proton magnetic resonance spectroscopy and neonatal neurology related to neurodevelopmental outcome at 1 year in term infants after presumed hypoxic-ischaemic brain injury. *Dev Med Child Neurol* 1999;41:436-45.
21. Robertson CM, Finer NN. Educational readiness of survivors of neonatal encephalopathy associated with birth asphyxia at term. *J Dev Behav Pediatr* 1988;9:298-306.
22. Robertson CM, Finer NN, Grace MG. School performance of survivors of neonatal encephalopathy associated with birth asphyxia at term. *J Pediatr* 1989;114:753.
23. Wigglesworth JS, Pape KE. An integrated model for haemorrhagic and ischaemic lesions in the newborn brain. *Early Hum Dev* 1978; 2:79-99.
24. Pasternak JF, Groothuis DR, Fischer JM, Fischer DP. Regional cerebral blood flow in the newborn beagle pup: the germinal matrix is a low flow structure. *Pediatr Res* 1982;16:499-503.
25. Hill A, Shackelford GD, Volpe JJ. A potential mechanism of pathogenesis for early posthemorrhagic hydrocephalus in the premature newborn. *Pediatrics* 1984;73:19-21.
26. Stutchfield PR, Cooke RW. Electrolytes and glucose in cerebrospinal fluid of premature infants with intraventricular haemorrhage: role of potassium in cerebral infarction. *Arch Dis Child* 1984; 64(4):470-5.
27. Paneth N, Rudelli R, Monte W, Rodriguez E, Pinto J, Kairam R *et al*. White matter necrosis in very low birth weight infants: neuropathologic and ultrasonographic findings in infants surviving six days or longer. *J Pediatr* 1990;16:975-84.
28. Hope PL, Gould SJ, Howard S, Hamilton PA, Costello AM, Reynolds EO. Precision of ultrasound diagnosis of pathological verified lesions in the brains of very premature infants. *Dev Med Child Neurol* 1988;30:457-71.
29. Hambleton G, Wigglesworth JS. Origin of intraventricular hemorrhage in the preterm infant. *Arch Dis Child* 1976;51:651-9.
30. Perry EH, Bada HS, Ray JD, Korones SB, Arheart K, Magill HL. Blood pressure increases, birth weight-dependent stability boundary, and intraventricular hemorrhage. *Pediatrics* 1990;85: 727-32.
31. Allen MC, Capute AG. Neonatal neurodevelopmental examination as a predictor of neuromotor outcome in premature infants. *Pediatrics* 1989;83:498-506.
32. Dubowitz LM, Dubowitz V, Palmer PG, Miller G, Fawer CL, Levene MI. Correlation of neurologic assessment in the preterm newborn infant with outcome at one year. *J Pediatr* 1984;105:452-6.
33. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1500 grams. *J Pediatr* 1978;92:529-34.
34. Ventriculomegaly Trial Group: Randomized controlled trial of early tapping in neonatal post hemorrhagic ventricular dilation. *Arch Dis Child* 1990;65:3.
35. Papile LA, Munsick-Bruno G, Schaefer A. The relationship of cerebral intraventricular hemorrhage and early childhood handicaps. *J Pediatr* 1983;103:273-7.
36. Dykes FD, Dunbar B, Lazarra A, Ahmann PA. Posthemorrhagic hydrocephalus in high-risk preterm infants: natural history, management and long term outcome. *J Pediatr* 1989;114:611-8.