



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**

Tesi di Laurea

Dipartimento di neuroscienze, riabilitazione oftalmologia genetica e
scienze materno infantili

**Ritardo di crescita intrauterina, steroidi prenatali, età
gestazionale e allattamento al seno influenzano la
salute dell'osso nel bambino in età prepubere nato
pretermine**

Relatrice

Chiar. ma Prof. ssa
Nataschia Di Iorgi

Candidato

Edoardo Baldioli
Matricola: 4416195

Anno Accademico 2021/2022

Indice

1	GLOSSARIO	3
2	ABSTRACT	4
3	INTRODUZIONE	6
3.1	DEFINIZIONI.....	6
3.2	OSTEOPOROSI IN PEDIATRIA.....	7
3.2.1	Definizione.....	7
3.2.2	Manifestazioni cliniche.....	7
3.2.3	Diagnosi.....	7
3.2.4	Fratture vertebrali.....	8
3.3	Densità minerale ossea in pediatria: come misurarla e interpretarla	8
3.4	MALATTIA METABOLICA OSSEA DEL PRETERMINE	9
3.4.1	Definizione ed eziologia	9
3.4.2	Patogenesi.....	9
3.4.3	Fisiopatologia	11
3.4.4	Screening.....	11
3.4.5	Terapia.....	12
3.5	STUDI DI densità minerale ossea NEL PRIMO ANNO DI VITA	13
3.6	STUDI DI densità minerale ossea IN ETÀ PEDIATRICA	15
3.7	20
3.8	STUDI DI DENSITÀ MINERALE OSSEA SU ADULTI EX-PRETERMINE.....	20
3.9	CONFRONTO DEI DATI.....	26
4	STUDIO	31
4.1	RAZIONALE	31
4.2	OBIETTIVI DELLO STUDIO	32
4.3	SOGGETTI E METODI	32
4.3.1	Disegno dello Studio.....	32
4.3.2	Soggetti.....	32
4.3.3	Metodi.....	34
4.4	RISULTATI	37
4.4.1	Soggetti.....	37
4.4.2	<i>Parametri antropometrici (tabella 4)</i>	38
4.4.3	Parametri ossei misurati mediante DXA	39
4.4.4	Determinanti prenatali e neonatali.....	41

4.4.5	Età gestazionale (GA)	43
4.4.6	Peso alla nascita	44
4.4.7	Correlazioni e analisi di regressione multipla	46
4.4.8	Esami di laboratorio	50
4.5	DISCUSSIONE.....	50
4.5.1	Determinanti di salute ossea perinatali	52
4.5.2	Determinanti di salute ossea postnatali.....	54
4.6	CONCLUSIONI	55
5	BIBLIOGRAFIA.....	56

1 GLOSSARIO

aBMD: <i>areal bone mineral density</i>	IUGR: <i>intrauterine growth restriction</i>
AGA: <i>appropriate for gestational age</i>	LBW: <i>low birth weight</i>
ALP: <i>alkaline phosphatase</i>	LGA: <i>large for gestational age</i>
BA: <i>bone area</i>	LS: <i>lumbar spine</i>
BAP: <i>bone alkaline phosphatase</i>	Mg: <i>magnesio</i>
BMAD: <i>bone mineral apparent density</i>	P: <i>fosfato</i>
BMC: <i>bone mineral content</i>	pQCT: <i>peripheral quantitative computed tomography</i>
BMD: <i>bone mineral density</i>	pQUS: <i>phalangeal quantitative ultrasound</i>
BMI: <i>body mass index</i>	PT: <i>preterm</i>
BT: <i>birth at term</i>	PTH: <i>paratormone</i>
Ca: <i>calcio</i>	RDS: <i>respiratory distress syndrome</i>
CA: <i>corrected age</i>	SDS: <i>standard deviation score</i>
Ctx: <i>C-terminal telopeptide</i>	SGA: <i>small for gestational age</i>
DXA: <i>dual-energy x-ray absorptiometry</i>	TBLH: <i>total body less head</i>
ELBW: <i>extremely low birth weight</i>	VLBW: <i>very low birth weight</i>
GA: <i>gestational age</i>	WB: <i>whole body</i>
ISCD: <i>international society for clinical densitometry</i>	

2 ABSTRACT

Objectives. To assess the long-term impact of prematurity and perinatal determinants on bone health and body composition before puberty.

Methods. Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) evaluation was performed in 100 former preterms (PT) (n=58M; mean gestational age (GA) 31.5 ± 2.6 weeks; range 26-36) and 51 born at term (BT) healthy prepubertal infants (n=23M). Twenty-seven subjects (n=21PT, n=6BT) were born IUGR (intrauterine growth restriction), 55 PT underwent antenatal steroids and 43 (n=20PT, n=23BT) were breastfed. Height (Ht SDS), body mass index (BMI SDS) and DXA measures of total body less-head (TBLH) and lumbar spine (L1-L4) bone mineral density (BMD g/cm^2 , Z-score and BMAD g/cm^3 , Z-score), bone mineral content (BMC, g), TBLH fat mass (FM%, kg) and free-fat mass (FFM, kg) were obtained. 25-Hydroxyvitamin D, PTH, C-terminal telopeptide (Ctx) and bone alkaline phosphatase (BAP) were measured.

Results. Mean age at study was 6.7 ± 1.3 years (range 5-9). There were no significant differences in anthropometrics, DXA and biochemical markers between PT and BT children. However, positive correlations were found between GA or birth weight and BMC, BMD, BMD Z-score both at TBLH and L1-L4 sites. Steroids were negatively ($-0.16 < r's < -0.39$; all $P's < 0.04$) and breastfeeding positively associated ($0.18 < r's < 0.29$; all $P's < 0.02$) with all bone parameters. IUGR (17.9%) and antenatal steroids were associated to overall lower bone parameters (all $P's < 0.05$). In multiple regression analyses GA was predictive of BMD (R^2 0.048) in PT but not in BT children after correction for age, height, body composition, IUGR, steroids and breastfeeding.

Conclusions. We found that former PT children don't display significant differences in skeletal status compared to age matched BT controls around 7 years of age; however, breast feeding seems associated with better bone health, while lower GA, IUGR and antenatal steroids might represent long-lasting risk factors.

Obiettivi. Valutare l'impatto a lungo termine della prematurità e dei determinanti perinatali sulla salute ossea e sulla composizione corporea in bambini prepuberi.

Metodi. È stata eseguita una valutazione mediante *Dual-energy X-ray absorptiometry* (DXA) in 100 ex-pretermine (PT) (n=58M; età gestazionale media (GA) 31,5±2,6 settimane; range 26-36) e 51 bambini nati a termine (BT) sani (n = 23M) in fase prepubere. Ventisette soggetti (n=21PT, n=6BT) sono nati IUGR (ritardo di crescita intrauterina), 55 PT sono stati sottoposti a steroidi prenatali e 43 (n=20PT, n=23BT) sono stati allattati al seno. Sono stati misurati altezza (Ht SDS), indice di massa corporea (BMI SDS) e parametri DXA di densità minerale ossea (BMD) al corpo intero (TBLH) e al rachide lombare (L1-L4) (g/cm^2 , Z-score e $\text{BMAD g}/\text{cm}^3$, Z-score), di contenuto minerale osseo (BMC, g), della massa grassa TBLH (% , kg) e della massa magra (kg). Sono stati dosati nel sangue 25-idrossivitamina D, PTH, telopeptide C-terminale (CTx) e fosfatasi alcalina ossea (BAP).

Risultati. L'età media allo studio era di 6,7±1,3 anni (range 5-9). Non si sono rilevate differenze significative a livello di Ht SDS, BMI SDS, misure DXA e marcatori ossei biochimici tra PT e BT. Tuttavia, sono state trovate correlazioni positive tra GA o peso alla nascita e BMC, BMD, BMD Z-score sia al TBLH che al L1-L4. Gli steroidi erano negativamente ($-0,16 < r < -0,39$; tutti i $P < 0,04$) e l'allattamento al seno positivamente correlati ($0,18 < r < 0,29$; tutti i $P < 0,02$) a tutti i parametri ossei. La condizione di IUGR (17,9%) e la terapia steroidea antenatale erano associate a parametri antropometrici e DXA complessivamente inferiori (tutti i $P < 0,05$). Mediante analisi di regressione multipla la GA era predittiva di BMD ($R^2 0,048$) nei PT ma non nei bambini BT dopo correzione per età, altezza, composizione corporea, IUGR, steroidi e allattamento materno.

Conclusioni. Bambini ex-PT non mostrano differenze significative a livello dei parametri DXA rispetto a controlli BT all'età di 7 anni; tuttavia, l'età gestazionale, la condizione di IUGR e steroidi perinatali risultano potenziali fattori di rischio a lungo termine per una ridotta densità minerale ossea, mentre l'allattamento al seno sembra associato ad una migliore salute ossea.

3 INTRODUZIONE

3.1 DEFINIZIONI

In relazione all'età gestazionale viene definito pretermine un neonato nato prima della trentasettesima settimana di gestazione, in particolare viene definito *moderate preterm* se nato tra le 37 e le 32 settimane, *very preterm* se nato tra le 32 e le 28 settimane ed *extremely preterm* se nato prima delle 28 settimane (1). Viene definito a termine un neonato nato tra la trentasettesima e la quarantaduesima settimana di gestazione e post-termine uno nato dopo la quarantaduesima settimana.

In relazione al peso alla nascita definiamo un neonato ELBW (*extremely low birth weight*) se il peso del neonato è minore o uguale a 1000g, VLBW (*very low birth weight*) se minore o uguale a 1500g, LBW (*low birth weight*) se minore o uguale a 2500g e macrosomico se invece è maggiore di 4500g.

Combinando entrambi i criteri possiamo stilare delle tabelle con dei percentili e definire un neonato SGA (*small for gestational age*) se il neonato si trova sotto al decimo percentile, AGA (*appropriate for gestational age*) se è compreso tra il decimo e il novantesimo percentile e LGA (*large for gestational age*) se si trova sopra al novantesimo percentile. Nella pratica clinica la maggior parte dei bambini nati SGA sono nati pretermine (2).

In questa tesi verrà focalizzata l'attenzione in particolar modo sul neonato pretermine, in quanto la prematurità, nonostante il progresso delle attuali cure perinatali e la messa in atto di interventi specifici, come la profilassi steroidea prenatale¹ e l'utilizzo di surfactante esogeno, rimane un importante fattore di rischio per lo sviluppo di patologie neonatali (3). Inoltre, l'alterazione della composizione corporea che si associa a tale condizione, in termini di massa grassa, massa magra e tessuto osseo, è associata a diverse condizioni che si presentano nelle età successive: da una parte ad un aumento del rischio di obesità e patologie cardiovascolari (4), dall'altra a ritardo di crescita (5) e malattia metabolica ossea nel pretermine (6).

¹I corticosteroidi vengono utilizzati nelle donne gravide a rischio di parto pretermine come profilassi per prevenire la sindrome da distress respiratorio (RDS) nel neonato.

3.2 OSTEOPOROSI IN PEDIATRIA

3.2.1 Definizione

Per osteoporosi si intende un'alterazione del tessuto osseo che comporta un aumento del rischio di fratture. Le cause dell'aumento del rischio di fragilità ossea sono legate ad alterazioni della micro- e macroarchitettura del tessuto scheletrico e ad alterazioni della sua mineralizzazione.

3.2.2 Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni cliniche dell'osteoporosi in età pediatrica variano da forme totalmente silenti a forme che comportano fratture ripetute e deformità scheletriche permanenti. L'osteoporosi può essere primaria, la cui forma più comune è rappresentata dall'osteogenesi imperfetta, o secondaria a patologie croniche o al loro trattamento (es. terapia con corticosteroidi).

3.2.3 Diagnosi

Secondo le linee guida della ISCD (*International Society for Clinical Densitometry*) la diagnosi di osteoporosi nel bambino e nell'adolescente considera due possibili condizioni:

- 1) presenza di una o più fratture vertebrali da compressione in assenza di patologie locali o eventi traumatici ad alta energia;
- 2) in assenza di fratture vertebrali da compressione, valori di BMD (*bone mineral density*) Z-score ≤ -2.0 , accompagnati da una storia di fratture clinicamente rilevanti (due o più fratture delle ossa lunghe prima del decimo anno di età oppure tre o più fratture delle ossa lunghe a qualunque età, fino al diciannovesimo anno).

Le linee guida raccomandano inoltre di non basarsi solamente sui criteri densitometrici per fare la diagnosi di osteoporosi in bambini e adolescenti e sottolineano che uno Z-score maggiore di -2 non preclude la possibilità di una fragilità ossea e di un aumentato rischio di frattura (7).

3.2.4 Fratture vertebrali

Le fratture vertebrali da compressione nei bambini possono dare sintomatologia acuta, essere paucisintomatiche o essere completamente silenti. Il metodo di scelta per studiarle è la radiografia standard, ma anche la DXA può essere utilizzata selezionando una specifica opzione per il VFA (*vertebral fracture assessment*) ottenuta posizionando il bambino sul fianco con gli arti inferiori flessi per mantenere la colonna lineare. Infine, un'altra tecnica per determinare il danno in fase acuta in caso di frattura vertebrale è la MRI (*magnetic resonance imaging*) che permette di visualizzare l'edema e il sanguinamento (aree focali ipointense in T1 e iperintense in T2 e STIR), i quali sono indicatori di un danno recente (< 2 mesi) (8).

3.3 Densità minerale ossea in pediatria: come misurarla e interpretarla

La BMD (*bone mineral density*) è il rapporto tra contenuto minerale osseo e superficie ossea esaminata (g/cm^2). L'esame di riferimento per la misurazione della BMD è la DXA (*dual-energy x-ray absorptiometry*). Questa tecnica consente di misurare, erogando una bassa dose di raggi-x, l'attenuazione dei fasci di raggi-x attraverso i tessuti di differente intensità. In questo modo riesce a calcolare, mediante specifici software, il BMC (*bone mineral content*), la BA (*bone area*) e la BMD.

La misurazione della BMD è spesso riportata come *standard deviation score* (BMD Z-score), punteggio ottenuto da una media basata su un insieme di individui sani raggruppati per età, etnia e sesso. Il BMD Z-score, tuttavia, varia sostanzialmente (fino a un massimo di 2 deviazioni standard) a seconda del database normalizzato usato per generare gli Z-score.

Si è osservato che una diminuzione del BMC e della BMD misurati a livello della colonna lombare e del corpo intero sono associati ad un aumentato rischio di frattura, dopo

correzione per età, sesso, altezza e peso. Ricordiamo però che la mineralizzazione ossea è solo uno dei fattori che determinano la salute dell'osso o la fragilità² (8).

NB. La BMD dell'età adulta dipende in gran parte dal picco di massa ossea raggiunto nella prima età adulta (si ipotizza attorno ai 21 anni) e dalla successiva perdita di massa ossea che si presenta in età più avanzata. Pertanto, un alto picco di massa ossea funge da riserva per le età future e una sua riduzione è un fattore determinante per il rischio di sviluppare osteoporosi e fratture in età avanzata (9–11). Diversi studi prospettici hanno documentato una forte correlazione tra l'*areal* BMD (aBMD) e la probabilità di frattura. È stato stimato che una diminuzione del BMD Z-score di -1 unità è associata a un rischio doppio o anche triplo di frattura (9,12–14).

3.4 MALATTIA METABOLICA OSSEA DEL PRETERMINE

3.4.1 Definizione ed eziologia

Per malattia metabolica ossea del pretermine si intende una diminuzione della mineralizzazione ossea testimoniata da alterazioni biochimiche e radiografiche. Questa patologia interessa il 16-40% dei VLBW e ELBW e si presenta solitamente entro le 6-16 settimane dopo la nascita. La malattia metabolica ossea del pretermine ha un'eziologia multifattoriale e più comunemente è il risultato di un inadeguato immagazzinamento di calcio (Ca) e fosforo (P) a livello osseo, esacerbato dal ridotto apporto di questi nutrienti nella vita neonatale e dall'alto grado di crescita ossea che avviene nelle settimane successive alla nascita (15).

3.4.2 Patogenesi

La popolazione pretermine è particolarmente suscettibile a questa patologia per due ragioni fondamentali: innanzitutto perché l'80% dell'accumulo minerale osseo del feto avviene durante l'ultimo trimestre di gravidanza, per un aumento del trasporto transplacentare di Ca, magnesio (Mg) e P nel neonato; pertanto un neonato pretermine,

² Vedi sezione "osteoporosi in pediatria"

che trascorre questo periodo senza la placenta e al di fuori dell'ambiente uterino, avrà una più bassa BMD e un BMC significativamente più basso rispetto a un nato a termine. Inoltre, per un appropriato sviluppo intrauterino dello scheletro fetale giocano un ruolo importante anche i movimenti attivi che il feto compie contro la parete uterina. In secondo luogo, garantire una nutrizione adeguata ai neonati pretermine può risultare alquanto complesso, in quanto la maggior parte dei *very preterm*, necessitano di nutrizione parenterale, la quale non è in grado di garantire da sola un sufficiente apporto di minerali. Inoltre, il latte materno è associato a diversi benefici nel breve e nel lungo termine, ma da solo non riesce a garantire tutti i nutrienti necessari senza supplementazione, soprattutto per quanto riguarda i minerali e in particolare i fosfati³. A ciò si aggiunge anche un inefficiente assorbimento dovuto al sottosviluppo del tratto gastrointestinale. Tutto ciò esita in una grande perdita di densità delle ossa lunghe, che aumenta quindi il rischio di sviluppare la malattia metabolica dell'osso (1).

Altri fattori che comportano una diminuzione della BMD e possono compromettere la salute dell'osso nei pretermine sono una nutrizione parenterale prolungata, ventilazione meccanica per patologia polmonare cronica, terapia con steroidi prenatali e furosemide (16), la compromissione respiratoria e le infezioni che possono danneggiare l'osso trabecolato. Inoltre, nello studio di J. Czech-Kowalska et al.⁴ è stato confermato che un basso peso alla nascita e una ridotta età gestazionale rappresentano dei fattori di rischio per lo sviluppo della malattia metabolica ossea del pretermine (17) .

Nonostante la malattia metabolica ossea del pretermine è spesso autolimitante e asintomatica, rimane il fatto che una ridotta mineralizzazione durante una finestra così critica può causare una riduzione del picco di massa ossea e di conseguenza aumentare il rischio di fratture nell'età infantile (*childhood*) e comportare un aumentato rischio di sviluppare osteoporosi poi in età adulta (1).

³ Infatti, le linee guida attuali raccomandano l'utilizzo di latte materno supplementato con minerali o della formula per nati pretermine (61).

⁴ Per trattazione più completa dello studio vedi sezione "studi di densità minerale ossea nel primo anno di vita".

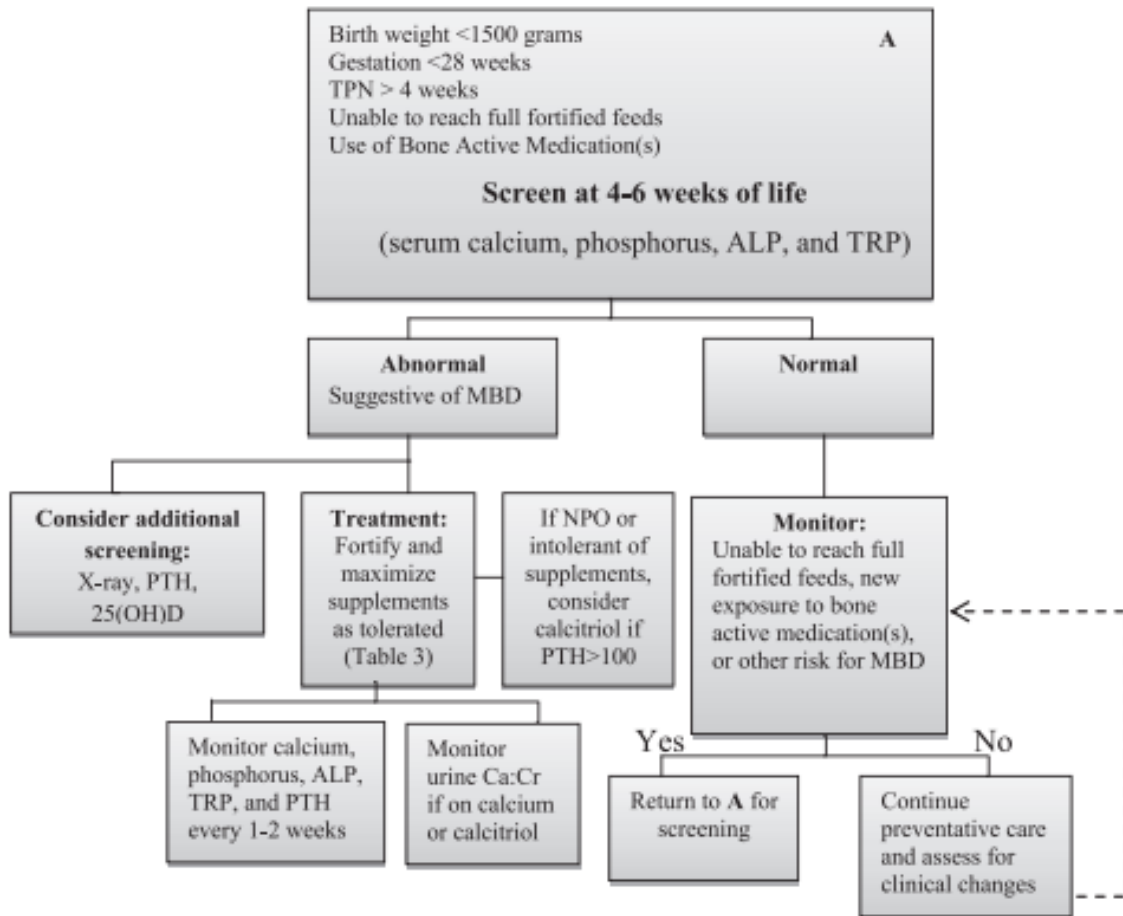
3.4.3 Fisiopatologia

Alla nascita, e in particolar modo nei pretermine, c'è un immediato calo dei livelli plasmatici di Ca, che raggiunge il picco minimo in 24-30 ore (18). In risposta a questo calo, i livelli di PTH aumentano al fine di far aumentare il Ca. A livello renale il PTH aumenta il riassorbimento di Ca e riduce il riassorbimento di P, determinando fosfaturia; inoltre aumenta anche la sintesi di 1,25-OH-vitamina D, che favorisce l'assorbimento intestinale di Ca e P. A livello osseo, il PTH stimola il riassorbimento osseo e il conseguente rilascio di Ca e P in circolo. Al netto, essendo maggiore l'effetto sul rene, gli effetti del PTH si manifestano con ipercalcemia e ipofosfatemia. Se queste alterazioni biochimiche persistono possono portare alla malattia metabolica ossea del pretermine. Dunque, il primo marker di alterato metabolismo minerale è l'ipofosfatemia, che compare 7-14 giorni dopo la nascita (19). La riduzione di P sopprime il PTH, in modo tale da evitare la perdita urinaria dello ione, mentre aumenta la sintesi di 1,25-OH-vitamina D, che fa aumentare il riassorbimento intestinale di Ca e P. Il rene risponde al deficit di P, aumentandone il riassorbimento. Noi possiamo stimare il riassorbimento tubulare di P (TRP) attraverso il rapporto tra P e creatinina (Cr) nel siero e nelle urine. Un elevato TRP associato a ipercalcemia e ipercalciuria può suggerire un inadeguato apporto di P. Queste alterazioni sono spesso accompagnate da un aumento della ALP, che rappresenta un marker di demineralizzazione ossea. Ricordiamo però che la ALP aumenta fisiologicamente nelle prime settimane di vita e raggiunge un plateau verso la 5^a-6^a settimana; se questo aumento si protrae oltre la 6^a settimana tipicamente è indice di un inadeguato apporto di minerali e spesso accompagna la malattia metabolica ossea. Tuttavia, è importante ricordare che i livelli di ALP non sembrano correlare con il grado di ipomineralizzazione. In alcuni neonati ad alto rischio (es. neonati con patologie croniche polmonari in terapia con furosemide e/o corticosteroidi) il deficit di Ca può portare a sviluppare la malattia metabolica ossea e ad un ipoparatiroidismo secondario.

3.4.4 Screening

Sebbene non ci sia consenso unanime riguardo lo screening e il monitoraggio di questa patologia, riporto di seguito questo algoritmo proposto da S. E. Rustico in una sua review (15), che si basa sui parametri biochimici precedentemente descritti.

Figura 1. Screening della malattia metabolica ossea del pretermine



3.4.5 Terapia

Le strategie terapeutiche di questa patologia si basano sulla supplementazione con Ca, P e vitamina D e sulla fisioterapia, che ha come scopo quello di mimare la stimolazione meccanica che, in condizioni fisiologiche, deriverebbe dai movimenti attivi fetali contro la parete uterina (15).

Per permettere di avere una visione prospettica dei risvolti di questa patologia nelle varie fasi della vita del paziente, di seguito riporterò i risultati di alcuni studi che hanno monitorato i pazienti, studiando la BMD e altri parametri inerenti al metabolismo osseo.

3.5 STUDI DI densità minerale ossea NEL PRIMO ANNO DI VITA

J. Czech-Kowalska et al. hanno condotto uno studio longitudinale su 184 bambini nati pretermine (≤ 34 settimane di gestazione), valutandone 160 a termine e 130 a tre mesi CA (*corrected age*). Con la DXA Lunar Prodigy è stata misurata la BMD, il BMC e la BA. L'obiettivo dello studio era quello di trovare dei parametri clinici e biochimici che fossero dei potenziali predittori del BMC.

In questo studio sono stati analizzati numerosi marcatori ossei ed è emerso che alti livelli di iPTH ($>43,6\text{pg/mL}$) erano gli unici predittori indipendenti di basso BMC a termine ($\leq 49\text{g}$, $p=0.041$); mentre una ridotta secrezione di P (TRP⁵ $>97\%$) e un aumento dell'osteocalcina sierica ($>172\text{ng/mL}$) si associavano a una diminuzione del BMC a 3 mesi CA ($\leq 91\text{g}$). Una diminuzione dell'iPTH durante la supplementazione orale di Ca conferma che ci sia un'aumentata probabilità di deficienza di Ca in bambini pretermine con un elevato iPTH. Inoltre, un aumento dell'assunzione di vitamina D nei pretermine fa aumentare l'accrescimento osseo. Quindi aumentando l'apporto di vitamina D e calcio è possibile sopprimere la sintesi di iPTH e il riassorbimento osseo e favorirne la mineralizzazione.

Pertanto, si è concluso che, tra tutti i marker ossei analizzati, nella regressione logistica multivariata, solo alti livelli di iPTH apparivano come significativo fattore di rischio indipendente per un basso BMC in neonati pretermine misurati a termine. Inoltre, in questo studio è stato confermato che una ridotta età gestazionale, un basso peso alla nascita e una nutrizione parenterale prolungata rappresentano dei fattori di rischio per lo sviluppo della malattia metabolica ossea del pretermine (17).

J. Figueras-Aloy et al. hanno condotto uno studio trasversale su 336 neonati pretermine (≤ 31 settimane, in media 28), 75 SGA e 261 AGA, valutandoli alla nascita. L'obiettivo dello studio era quello di valutare la BMD alla nascita in neonati pretermine e identificare i migliori valori di cutoff di ALP (500IU/L) e fosfati (4.5mg/dL) sierici per definire la severità della malattia metabolica ossea del prematuro. La valutazione del BMD è stata

⁵ Riassorbimento tubulare di fosfati

effettuata mediante DXA Lunar Prodigy, utilizzando per la quantificazione finale il valore medio del tratto L2-L4.

La severità delle alterazioni del metabolismo P-Ca nella malattia metabolica ossea del prematuro correlava con l'aumento dell'ALP ($p < 0.001$) nel primo mese di vita e con la diminuzione dei livelli sierici di P ($p < 0.001$) e, in alcuni casi, di Ca. I valori di Ca, P e ALP sierici e il riassorbimento tubulare di P sono stati misurati alla nascita e nel momento in cui è stata eseguita la DXA. Tuttavia, si è evinto che nessuno dei marcatori ossei valutati (Ca, P, ALP, PTH, vitamina D), se preso singolarmente, poteva essere considerato un marker della patologia. Le variazioni della BMD sono indipendenti dal sesso. La BMD è stata classificata come scarsa ($< 10^{\circ}$ percentile) se $< 0.068 \text{ g/cm}^2$, sufficiente (10° - 25° percentile) se compresa tra 0.068 e 0.081 g/cm^2 , buona (25° - 75° percentile) se compresa tra 0.081 e 0.112 g/cm^2 e molto buona ($> 75^{\circ}$ percentile) se $> 0.112 \text{ g/cm}^2$. La malattia metabolica dell'osso del pretermine era assente ($\text{ALP} \leq 500 \text{ UI/L}$) in 279 casi (83.0%), lieve ($\text{ALP} > 500 \text{ UI/L}$ e $\text{P} \geq 4.5 \text{ mg/dL}$) in 46 casi (13.7%) e severa ($\text{ALP} > 500 \text{ IU/L}$ e $\text{P} < 4.5 \text{ mg/dL}$) in 11 casi (3.3%).

Lo studio ha concluso pertanto che una $\text{BMD} > 0.068 \text{ g/cm}^2$ alla nascita indicava una probabilità del 90.3% di non sviluppare una malattia metabolica dell'osso del prematuro. La BMD era primariamente condizionata dalla mineralizzazione prenatale e le sue variazioni sono indipendenti dal sesso.

Inoltre, durante lo studio è stato osservato che l'aumento del BMD era associato a un maggior peso ed età gestazionale alla nascita, a una ridotta durata della nutrizione parenterale e a una nutrizione esclusiva con latte materno fortificato ed era correlata ad una riduzione del rischio di essere SGA, di presentare una pervietà del Dotto di Botallo e di sviluppare emorragia intraventricolare (20).

I. Ahmad et al. hanno condotto uno studio trasversale su 102 neonati, 20 dei quali nati tra le 23 e le 28 settimane di gestazione, 26 tra le 29 e le 32, 17 tra le 33 e le 36 e 39 tra le 37 e le 42. Sono stati tutti valutati all'età a termine. L'obiettivo dello studio era mettere a confronto le misurazioni di ecografia degli arti (*limb ultrasound*, LB), bone QUS (*quantitative ultrasound*) e DXA Hologic Discovery. La LB è una metodica che permette

di quantificare massa magra e la massa grassa regionale (21)-(22), la DXA permette di misurare massa grassa e massa magra sia dell'intero corpo sia di una regione specifica, mentre la QUS permette di misurare la resistenza ossea basandosi velocità di propagazione delle onde sonore (*speed of sound*, SOS) nel tessuto osseo. Tutti i tecnici che hanno utilizzato tali tecniche non conoscevano la storia clinica precedente dei neonati esaminati.

Le valutazioni di massa e magra della LB erano notevolmente correlate con quelle della DXA, suggerendo la potenziale utilità della LB come tecnica per studiare tali aspetti della composizione corporea in questa popolazione fragile. Si è osservata una debole ma significativa correlazione tra la resistenza ossea misurata con la QUS e la BMD misurata con la DXA. Tuttavia, la QUS non può sostituire la DXA nella misurazione della mineralizzazione ossea e pertanto queste due tecniche non sono da considerarsi intercambiabili, ma piuttosto complementari.

Inoltre, nello studio si è osservato che i neonati pretermine misurati a termine avevano un peso, lunghezza, circonferenza cranica, massa magra e massa grassa in sezione trasversale e dell'intero corpo, SOS ossea e BMD significativamente inferiori rispetto i nati a termine. Ciò indica che le attuali⁶ cure post-natali e il supporto nutrizionale non sono ancora in grado di sostituire l'ambiente intrauterino per quanto riguarda lo sviluppo e la crescita ottimali dell'osso (23).

3.6 STUDI DI densità minerale ossea IN ETÀ PEDIATRICA

Christmann et al. hanno condotto un importante studio longitudinale su due coorti (una del 2004 e una del 2005) di nati pretermine (<32 settimane oppure con peso inferiore ai 1500g), una composta da 63 e una da 66 bambini. Di questi pazienti sono stati riportati quotidianamente per le prime 2 settimane i dati relativi alla crescita (dati antropometrici), al decorso clinico, concentrandosi particolarmente sui farmaci che possono influire sulla mineralizzazione ossea, e l'apporto di tutti i nutrienti e poi settimanalmente fino a 5 settimane. Successivamente è stata effettuata una valutazione completa a 6 mesi e a 1, 2,

⁶ Anno dello studio: 2010

5 e 9-10 anni. Per valutare i parametri di mineralizzazione ossea è stata utilizzata la DXA Hologic valutando l'intero corpo (*whole body*, WB) e la colonna lombare (*lumbar spine*, LS) da L1 a L4. Per esaminare gli effetti dell'apporto nutritivo su lunghezza e mineralizzazione ossea è stata usata una regressione lineare multivariata. I nati SGA e AGA sono stati valutati separatamente, così come anche maschi e femmine. L'obiettivo dello studio era quello di capire se l'aumento della supplementazione di Ca, P e proteine in neonati VLBW durante i primi 14gg di vita fosse associato ad un aumento della lunghezza e a un aumentato sviluppo osseo fino ai 9-10 anni d'età.

Nello studio si è osservato che le misurazioni della massa ossea di WB e LS, effettuate a 9 e 10 anni erano nel range della norma e non sembrava esserci correlazione con l'apporto nutrizionale. Solo per le bambine pareva esserci un'associazione tra altezza a 9-10 anni e il peso alla nascita. La regressione lineare ha dimostrato che l'apporto di minerali non ha sortito effetti sulla mineralizzazione ossea. Nel confronto tra la coorte del 2004 vs. 2005 emerge che la BMD media SDS dell'intero corpo è 0.43 vs. 0.35 (differenza media di 0.08 tra 2004 vs. 2005) e quella a livello della colonna lombare è -0.036 vs. -0.15 (differenza media di 0.11) (24).

Inoltre, in entrambe le coorti più del 90% dei neonati ha ricevuto il latte materno e diversi studi hanno sottolineato come, nonostante il basso contenuto di minerali, il latte materno abbia un effetto positivo sullo sviluppo osseo (25,26).

Charlotte A. Ruys et al. hanno condotto uno studio longitudinale su 79 bambini nati pretermine (≤ 32 settimane e/o WLBW), 17 SGA e 62 AGA. Sono stati misurati leptina e IGF-1 sierici a termine, a 3 e a 6 mesi CA e a 8 anni. La composizione corporea (massa magra e grassa) e i parametri ossei (BA, BMD e BMC) sono stati misurati *whole body* (WB) con la DXA Hologic a termine, a 6 mesi CA e a 8 anni. Inoltre, contemporaneamente a questi parametri, oltre che alla nascita, sono stati misurati peso e altezza. L'obiettivo era quello di studiare l'interazione tra leptina, IGF-1, massa grassa e

mineralizzazione ossea di bambini nati pretermine misurate durante l'infanzia (*infancy* e *childhood*⁷).

Dallo studio è emerso che durante l'infanzia (*infancy* e *childhood*) i livelli di leptina e l'IGF-1 erano associati alla composizione corporea (massa grassa). Inoltre, la leptina era associata ai parametri ossei nella prima infanzia (*infancy*), ma non in seguito (*childhood*). Non sembravano esserci valori predittivi di parametri endocrini riguardo il metabolismo osseo misurati a 8 anni. Ciò suggerisce che durante l'infanzia (*childhood*) altre caratteristiche (come il sesso, la massa ossea e l'altezza) diventano più importanti per la mineralizzazione ossea (27).

L'Autore, citando un altro paper (28) sottolinea che vi è anche una correlazione tra prematurità e patologie cardiovascolari, che può essere spiegata dall'aumento della massa grassa riscontrato in bambini nati pretermine rispetto ai coetanei nati a termine.

Carmen M. T. Lageweg et al. hanno condotto un importante studio trasversale su 60 bambini nati pretermine (<34 settimane e VLBW), valutandoli all'età di 9-10 anni. L'obiettivo dello studio era quello di capire se DXA e pQUS potessero dare risultati equivalenti in termini di valutazione della mineralizzazione ossea, nei bambini di 9 e 10 anni.

È stata utilizzata la DXA Hologic per misurare la BMD, il BMC e il BMD Z-score sia a livello di WB sia di LS (L1-L4). Nello studio uno Z-score ≤ -2 SDS è considerato come "basso" stato di mineralizzazione ossea, uno Z-score compreso tra -1 e -2 SDS come "ridotto" e uno Z-score > -1 come "normale". A confronto con la DXA è stata messa la pQUS, tecnica con la quale sono stati misurati i valori di AD-SoS (*amplitude dependent speed of sound*) e BTT (*bone transit time*) ai II-III-IV metacarpi entrambi espressi in valori continui e Z-score di 2 tipi, uno basato su sesso ed età ("*Z-score age*") e uno basato su sesso e altezza ("*Z-score height*"). Sono stati utilizzati 4 metodi statistici per valutare l'associazione tra le 2 tecniche: coefficienti di correlazione di Pearson; coefficienti di

⁷ Riporto in lingua inglese i termini *infancy* e *childhood* in quanto nella lingua italiana rientrano sotto il generico termine "infanzia", mentre la lingua inglese definisce il termine *infancy*, seguendo la derivazione latina, come l'età in cui il bambino non è in grado di parlare, quindi fino approssimativamente i 2 anni; mentre *childhood* come l'età compresa tra l'*infancy* e l'adolescenza, età di transizione tra lo stato infantile e quello adulto, che si situa solitamente durante il secondo decennio di vita.

correlazione parziale, corretti per età gestazionale, altezza e BMI; analisi di Bland-Altman; tabulazioni incrociate. Riporto di seguito i valori di BMD Z-score trovati. BMD Z-score WB: totale (n=60)= 0.4 ± 1.0 maschi (n=31)= 0.5 ± 1.0 femmine (n=29)= 0.3 ± 1.0 . BMD Z-score LS: totale= -0.1 ± 1.1 maschi= -0.2 ± 1.3 femmine= 0.1 ± 1.0 .

In questo studio è stato dimostrato che non c'era equivalenza tra DXA e pQUS e di conseguenza la DXA non può essere sostituita dalla pQUS per la misurazione della mineralizzazione ossea di bambini di 9 e 10 anni nati pretermine (29).

L. S. Bowden et al. hanno condotto uno studio trasversale su 86 bambini valutati all'età di 8 anni, 46 nati pretermine (<32 settimane, 20 maschi e 26 femmine) confrontati con 39 controlli nati a termine. L'obiettivo dello studio era capire se i soggetti nati pretermine presentassero una riduzione della massa minerale ossea in età pediatrica, studiandola sia a livello assiale sia a livello appendicolare.

Sono stati misurati con DXA Hologic BMD e BMC a livello di LS, avambraccio e anca. Sono stati anche misurati peso e altezza. Nello studio sono state analizzate come variabili anche alcune variabili quali il tipo di allattamento, la durata della nutrizione parenterale e l'età gestazionale. I pretermine risultavano avere un'altezza inferiore di 4.9 cm e un peso inferiore di 2.6 kg. Non si sono trovate differenze in termini di BMI. La BMC in tutti i distretti era significativamente più bassa nei pretermine (avambraccio= 2.73 vs 2.93 g/cm, LS= 17.42 vs 19.49 e anca= 11.92 vs 13.55 g/cm), ma non se corretta per altezza e peso. La BMD era simile a livello dell'avambraccio (0.383 vs 0.381 g/cm²) e a livello di LS (0.585 vs 0.599 g/cm²), ma era significativamente ridotta a livello dell'anca nei pretermine (0.642 vs 0.683 g/cm²). Si è osservato che, tra le variabili analizzate, la ventilazione polmonare post-natale prolungata è quella che si associava maggiormente a un più basso LS BMC, mentre una nutrizione post-natale con formula per pretermine si associava ad un aumento della BMC a livello dell'avambraccio.

Dunque, lo studio ha concluso che i bambini ex-pretermine all'età di 8 anni presentano una significativa riduzione della massa minerale ossea, proporzionata alla loro crescita ridotta e alla ridotta BMD a livello dell'anca (30).

H. Abou Samra et al. hanno condotto uno studio trasversale su 24 bambini maschi, alcuni nati pretermine (≤ 34 settimane), altri *late-preterm* (tra le 34 e le 37 settimane) e altri a termine (>37 settimane) (8 bambini in ogni gruppo), valutandoli ad un'età compresa tra i 5.7 e 8.3 anni. L'obiettivo dello studio era determinare se ci fossero differenze a livello di massa ossea e di dimensioni tra i vari gruppi e identificare eventuali fattori ambientali associati a questi parametri.

Sono state utilizzate DXA Hologic per misurare BA, BMC e aBMD a livello di WB, LS e anca e la peripheral Quantitative Computed Tomography (pQCT) a livello della tibia. È risultato che i nati a termine avevano dei BMD a livello dell'anca, BMC a livello di WB, spessore corticale, area corticale e densità minerale ossea del volume trabecolare maggiori rispetto ai pretermine e dei BMC e aBMD a livello di WB, dell'anca e del collo del femore e BA a livello di WB maggiori rispetto ai *late-preterm* (aBMD anca= 0.72 ± 0.02 vs 0.63 ± 0.02 vs 0.62 ± 0.02 g/cm², aBMD collo del femore= 0.66 ± 0.02 vs 0.57 ± 0.02 vs 0.59 ± 0.02 g/cm², aBMD LS= 0.60 ± 0.02 vs 0.53 ± 0.02 vs 0.56 ± 0.02 g/cm²)⁸. Inoltre, è emerso che bambini nati da un parto semplice avevano un LS BMC e un'aBMD maggiore rispetto a quelli nati da un parto multiplo (20.2 ± 0.8 g e 0.59 ± 0.02 g/cm² per gestazione singola vs. 16.8 ± 1.2 g and 0.51 ± 0.03 g/cm² per gestazione multipla).

Pertanto, lo studio ha concluso che i bambini nati a termine avevano una massa e dimensione ossea maggiori rispetto ai nati pretermine e massa ossea maggiore rispetto ai *late-preterm* a livello di diversi siti ossei (31).

M.S. Fewtrell et al. hanno condotto un importante studio longitudinale su 244 bambini nati pretermine (128 maschi e 116 femmine). Sono stati misurati il peso e la lunghezza alla nascita, a 18 mesi CA, a 7.5-8 anni e a 8-12 anni. Di questi bambini sono stati studiati la massa ossea, utilizzando come marker il BMC e la BMD misurati con la DXA Hologic e con la Single Photon Absorptometry (SPA), e il turnover osseo, utilizzando come marker l'osteocalcina plasmatica e la desossipiridinolina urinaria. DXA e SPA sono state eseguite tra gli 8 e i 12 anni. L'obiettivo dello studio era capire il ruolo che la crescita gioca sulla

⁸ Ho riportato solo i dati inerenti all'aBMD dal momento che erano quelli maggiormente significativi.

massa ossea e il turnover osseo nei nati pretermine, indipendentemente dalla loro età gestazionale.

Durante il *follow-up* si è osservata una correlazione sempre più forte tra peso e altezza misurati alla nascita, a 18 mesi, a 7,5-8 anni e a 8-12 anni e la BA, BMC e BMD. Dopo aver corretto per le dimensioni correnti (riferito al periodo in cui sono state eseguite DXA e SPA), si è osservata una significativa associazione negativa tra le misurazioni precedenti e successiva massa ossea a livello di WB e LS, che risultavano maggiori per l'altezza rispetto al peso, e un'associazione negativa tra peso alla nascita e successiva massa ossea radiale; ma nessuna correlazione con il turnover osseo. BMD corretto per il peso SDS WB alla nascita vs 8-12 anni= 0.02 vs 0.51, BMD LS nascita vs 8-12 anni= 0.06 vs 0.50, BMD collo femore nascita vs 8-12 anni= 0.02 vs 0.42, BMD radio nascita vs 8-12 anni= -0.13 vs 0.31. BMD corretto per l'altezza SDS WB alla nascita vs 8-12 anni= -0.10 vs 0.41, BMD LS nascita vs 8-12 anni= -0.02 vs 0.4, BMD collo femore nascita vs 8-12 anni= -0.09 vs 0.37, BMD radio nascita vs 8-12 anni= -0.08 vs 0.27. Inoltre, si è osservato che la quantità di Ca assunta con la dieta e il livello di attività non hanno effetti indipendenti sulla massa ossea.

Pertanto, lo studio ha concluso che i bambini di maggiori dimensioni corporee, soprattutto l'altezza, avevano maggior massa ossea e quindi c'era una correlazione diretta tra la massa ossea a 8-12 anni e le dimensioni correnti. Ciò avvala l'ipotesi che favorire la crescita lineare in bambini vulnerabili potrebbe essere importante per massimizzare la massa ossea (25).

3.7

3.8 STUDI DI DENSITÀ MINERALE OSSEA SU ADULTI EX- PRETERMINE

Chandima N. D. Balasuriya et al. hanno condotto uno studio longitudinale su 189 adulti di età compresa tra i 25 e i 28 anni. In questo gruppo erano compresi 55 nati pretermine VLBW, 59 nati SGA, 75 AGA e un gruppo di controllo di 75 nati a termine (≥ 37 settimane e peso $\geq 10^{\circ}$ percentile). L'obiettivo dello studio era quello di valutare se ci fosse

un'associazione tra l'essere nati SGA e/o VLBW e lo sviluppo di sindrome metabolica⁹ in età adulta e capire se ciò avesse un impatto sulla qualità e mineralizzazione ossea e conseguentemente sul rischio di frattura.

Gli *outcome* valutati erano i criteri su cui si basa la diagnosi di sindrome metabolica: pressione arteriosa (PA), circonferenza addominale, glucosio basale e il profilo lipidico (HDL e TG); a ciò si è aggiunta l'associazione tra MetS score¹⁰, BMD e TBS (trabecular bone score)¹¹, intesi come misure della qualità dell'osso. Con la DXA Hologic Discovery sono stati valutati massa magra e grassa, il BMD di WB, LS, anca totale e collo del femore e il TBS della colonna. Sono anche stati usati questionari riguardanti l'abitudine al fumo, l'attività fisica, condizioni mediche e terapia in atto.

Di seguito riporto i valori di BMD a cui l'Autore fa riferimento, citati però in un altro suo *paper* (32). BMD Z-score LS: controlli= -0.25 SGA= -0.51 VLBW= -0.55; BMD Z-score *femoral neck*: controlli= 0.10 SGA= -0.14 VLBW= -0.47; BMD Z-score *total hip*: controlli= 0.20 SGA=-0.04 VLBW=-0.21; BMD Z-score WB: controlli= -0.29 SGA= -0.67 VLBW= -0.78.

È stato osservato che adulti nati VLBW presentavano un'inferiore BMD a livello del collo femorale, dell'anca totale e del WB rispetto ai controlli; mentre il TBS era simile tra i gruppi. Si è osservata una correlazione inversa tra TBS e MetS score; ciò suggerisce che la sindrome metabolica potrebbe contribuire al peggioramento della qualità dell'osso.

Analizzando i risultati, lo studio ha concluso che il gruppo dei nati LBW (soprattutto le femmine nate VLWB) ha mostrato un profilo lipidico meno favorevole rispetto ai controlli e l'associazione inversa tra MetS score e qualità ossea suggerisce un aumento del rischio di frattura (33).

Inoltre, è stato osservato che femmine nate VLBW e SGA avevano meno massa magra rispetto ai controlli ed è riportato in letteratura che una minor massa magra è associata ad un maggior rischio cardiometabolico (34).

⁹ Patologia che aumenta il rischio cardiovascolare e la probabilità di sviluppare diabete mellito di tipo 2.

¹⁰ MetS score= circonferenza addominale + (PAS + PAD)/2 - log(HDL + glucosio basale + TG)

¹¹ Il TBS correla con la microarchitettura ossea ed è una misura della qualità ossea.

Li Feng Xie et al. hanno condotto uno studio trasversale su 196 adulti di età compresa tra i 18 e i 29 anni (età media 23). 101 erano nati pretermine (<29 settimane, in media 27.1 e peso medio di 957g) e 95 a termine. È stata usata la DXA Lunar Prodigy per misurare la BMD e il BMC della LS (L2-L4), collo del femore e WB, oltre che massa magra e massa grassa. L'obiettivo dello studio era quello di comparare la BMD di giovani adulti nati molto pretermine con quella di controlli nati a termine ed esaminare i fattori associati alla salute a lungo termine dell'osso.

Si è osservato che la BMD dei nati pretermine era ridotta a livello della LS, del collo del femore e del WB rispetto ai controlli, ma, dopo aver applicato i fattori di correzione, il BMD Z-score era significativamente più basso solo a livello del collo del femore. Ciò suggerisce una correlazione tra nascita pretermine e bassa BMD nell'età adulta.

Inoltre, i giovani adulti nati pretermine avevano peso, altezza e massa magra significativamente minori rispetto ai controlli nati a termine. Solo l'83% dei pretermine ha raggiunto il target genetico, a differenza del 98% dei controlli.

Infine, l'Autore sottolinea che, nonostante attualmente non sussista da parte della ISCD (7) una raccomandazione per l'utilizzo della DXA come screening per valutare la BMD nei prematuri, un attento monitoraggio per le fratture da osteoporosi diventerà importante per guidare la pratica clinica per le popolazioni molto pretermine (35).

P. Hovi et al. hanno condotto uno studio trasversale su 144 adulti di età compresa tra i 18.5 e i 27.1 anni (età media 22.6) nati pretermine (età gestazionale media 29.3 settimane, peso alla nascita 1127g e *birth weight Z-score* di 1.3) e 139 controlli nati a termine. L'obiettivo dello studio era capire se la prematurità e il fatto di essere VLBW si associasse ad una riduzione della BMD in età adulta.

Sono stati misurati BMD a livello di collo femorale, LS (tratto L1-L4) e WB e la composizione corporea. I dati sono stati trasformati in Z-score basandosi su un database normalizzato per età e sesso. Per minimizzare l'effetto che le dimensioni ossee possono avere sulla BMD a livello della LS, è stata calcolata anche una stima della densità

volumetrica definita *bone mineral apparent density* (BMAD)¹². Inoltre, sono stati valutati anche i dati antropometrici.

Si è osservato che gli adulti nati VLBW pretermine avevano un'altezza inferiore di 5.1 cm i maschi e 4.8 cm le femmine e un BMD Z-score di -0.51 unità a livello della LS, e di -0.56 unità a livello del collo femorale rispetto gli adulti nati a termine. Anche la BMAD, parametro che tiene conto anche delle ridotte dimensioni ossee degli individui VLBW, è risultata inferiore nei soggetti VLBW. Inoltre, si è osservato che gli individui esposti a corioamnionite avevano un BMD Z-score di -0.96 alla LS, -0.80 al collo femorale e -0.56 al WB e un'età gestazionale inferiore (27.9 settimane) rispetto ai controlli.

Dunque, lo studio ha concluso che i giovani adulti nati pretermine e con VLBW, se studiati nel picco di massa ossea, presentavano una BMD significativamente più bassa rispetto ai coetanei nati a termine. Ciò potrebbe essere predittivo di osteoporosi sintomatica e aumentare il rischio di frattura nelle età successive. Pertanto, i soggetti nati pretermine e con VLBW dovrebbero essere incoraggiati ad assumere cibi ricchi in vitamina D e Ca e a fare esercizio fisico per migliorare la loro salute ossea e ridurre il rischio di sviluppare osteoporosi (36).

M. C. Backstrom et al. hanno condotto uno studio trasversale su 40 giovani adulti (tra i 18 e i 27 anni) nati pretermine (media di 31 settimane di gestazione, peso alla nascita di 1630g e lunghezza di 41,2 cm) confrontati con 42 controlli nati a termine. L'obiettivo dello studio era indagare gli effetti della prematurità sulla struttura ossea in età adulta.

Sono state misurate, con la tomografia computerizzata quantitativa periferica (pQCT), il BMC, l'area della sezione trasversale ossea totale, l'area e lo spessore corticale, la densità trabecolare e corticale e un modulo di sezione polare ponderato per densità, considerato come indice di resistenza ossea¹³ a livello di radio distale e tibia destri. Inoltre, sono state valutate anche le misure antropometriche.

Dalle misurazioni è emerso che altezza e peso erano simili tra i due gruppi al momento della valutazione, mentre dalle cartelle cliniche si osservava un peso e altezza

¹² $BMAD = BMC_{L1-L4} / BA_{L1-L4}^{1.5}$ (62)

¹³ Riflette la resistenza contro un carico torsionale e di flessione

significativamente minori a 6 e 12 mesi CA. È però risultato che il gruppo dei pretermine aveva una minor area della sezione trasversale totale, un indice di resistenza ossea e un BMC significativamente inferiori rispetto al gruppo di controllo a livello di tibia e radio distali e del pilone tibiale.

Pertanto, lo studio ha concluso che la prematurità era associata a minor dimensioni trasversali ossee e a una minor resistenza ossea a livello di tibia e radio distali e pilone tibiale.

NB. La pQCT è l'unica tecnica attualmente disponibile che permette, senza un eccessivo uso di radiazioni, valutare la densità dell'osso corticale e trabecolare separatamente. Sfortunatamente questa tecnica non può essere applicata per valutare alcune tra le più importanti sedi scheletriche, ad esempio il femore prossimale e la colonna lombare (37).

S. R. Dalziel et al. hanno condotto uno studio longitudinale su 174 adulti di 31 anni, 101 dei quali nati pretermine (<37 settimane), confrontandoli con 73 nati a termine. L'obiettivo dello studio era capire se l'esposizione prenatale al betametassone, il basso peso alla nascita e la prematurità alterassero il picco di massa ossea in età adulta.

Sono stati misurati BA, BMC, BMD (espresso in Z-score) e geometria ossea a livello di LS (L2-L4), femore prossimale e WB con la DXA Lunar Prodigy. Inoltre, sono stati misurati i dati antropometrici.

Non si sono rilevate differenze nelle misurazioni DXA a tutti i livelli e nell'altezza tra i soggetti esposti a betametassone prenatale e quelli esposti a placebo (in quelli esposti si è solo osservato un aumento relativo della lunghezza degli arti inferiori), mentre coloro che avevano un minor peso alla nascita presentavano una minor altezza a 31 anni. Non si è rilevato alcun effetto negativo della prematurità sul picco di massa ossea e sulla geometria del femore, però si è osservato che tutti coloro che avevano un più basso peso alla nascita, indipendentemente dall'età gestazionale, avevano un BMC inferiore a livello di tutti e tre i siti misurati.

Quindi lo studio ha concluso che l'esposizione a betametassone prenatale non alterava il picco di massa ossea e la geometria femorale nell'adulto. Inoltre, il peso alla nascita e la prematurità influenzavano la statura in età adulta, ma è un rallentamento della crescita

fetale, più che la prematurità, che era predittivo di un picco di massa ossea inferiore. Tuttavia, il picco di massa ossea negli adulti nati con dimensioni inferiori è appropriato per la loro altezza da adulti (38), infatti anche altri studi hanno osservato che l'associazione tra LBW e ridotta massa ossea si riduce dopo correzione per le dimensioni correnti, suggerendo che i soggetti nati con dimensioni inferiori abbiano dimensioni ossee inferiori, proporzionate alle loro dimensioni minori da adulti (39–43).

M. S. Fewtrell et al. hanno condotto un importante studio longitudinale su 202 nati pretermine seguendoli in *follow-up* per 20 anni. L'obiettivo dello studio era capire se una dieta mirata instaurata precocemente e l'allattamento materno potessero modificare il picco di massa ossea e il turnover osseo e se i nati pretermine avessero un picco di massa ossea ridotto rispetto ai nati a termine.

È stato compiuto uno studio randomizzato per: 1) formula per pretermine vs. latte materno e 2) formula per pretermine vs. formula per nato a termine. Gli *outcome* misurati erano i dati antropometrici, i marker di turnover osseo e BMC e BA di anca, LS e WB misurati con la DEXA.

Dalle misurazioni si è evinto che la randomizzazione della dieta non ha influenzato il picco di massa ossea o il turnover osseo, però si è osservato che coloro che avevano ricevuto per più del 90% il latte materno avevano una BA e un BMC del WB maggiore (del 48%) rispetto a coloro che ne avevano ricevuto meno del 10%. Rispetto alla popolazione generale i soggetti dello studio avevano un'altezza significativamente inferiore (-0.41 SDS), un BMI superiore (0.31 SDS) e un minor BMD della LS (-0.29 SDS); inoltre i deficit di altezza e massa ossea erano maggiori in quelli nati SGA con peso alla nascita inferiore ai 1250g (altezza= -0.81 SDS, BMD di LS= -0.61 SDS).

Pertanto, si è concluso che l'altezza definitiva e la massa ossea della LS minori non sembrerebbero correlate ad una nutrizione sub-ottimale precoce. La maggior massa ossea di WB associata all'assunzione di latte materno, nonostante il suo basso contenuto di minerali, potrebbe far supporre che ci siano dei fattori non nutritivi di questo alimento che vadano ad influenzare il processo di mineralizzazione ossea (44).

P. E. Breukhoven et al. hanno condotto uno studio trasversale su 276 giovani adulti (tra i 18 e i 24 anni), dei quali 151 erano nati pretermine (<36 settimane, in media 32.2) e 125 a termine (≥ 36 settimane, in media 40). Il 37.7% dei pretermine era nato SGA. L'obiettivo dello studio era quello di valutare gli effetti a lungo termine della prematurità sulla BMD a livello di WB e LS e la BMAD a livello di LS.

La BMD è stata misurata con la DXA Lunar Prodigy ed è stata riportata come BMD Z-score.

Non è emersa nessuna correlazione lineare significativa tra BMAD e BMD a livello di WB e LS ed età gestazionale, neanche dopo aver considerato possibili fattori confondenti.

Pertanto, si è concluso che in questa coorte di soggetti l'età gestazionale non era un significativo determinante della variazione della BMD e quindi la prematurità non era associata a un minor BMD nei giovani adulti (45).

3.9 CONFRONTO DEI DATI

Per concludere questa sezione introduttiva ho creato queste tabelle, che consentono di mettere in evidenza i risultati riscontrati in alcuni degli studi esaminati nei precedenti 3 sotto-capitoli e che si ritroveranno tra gli obiettivi dello studio che descriverò e discuterò nella successiva sezione.

NB. Nella tabella 2, dal momento che vengono messi a confronto studi effettuati in età pediatrica, come lo studio che descriverò nella prossima sezione, ho riportato anche i valori di BMD, in modo tale da rendere più semplice il confronto nella discussione.

Tabella 1: Studi effettuati nel primo anno di vita

Autore, anno	Design dello studio	Numero pazienti	Età alla valutazione	Risultati
J. Czech-Kowalska, 2016	Longitudinale	184 pretermine	A termine e a 3 mesi CA	Alti livelli di iPTH sono risultati predittori di basso BMC. Inoltre, una ridotta età gestazionale, un basso peso alla nascita e una nutrizione parenterale prolungata sono risultati essere fattori di rischio per lo sviluppo di malattia metabolica ossea.
J. Figueras-Aloy, 2014	Trasversale	336 pretermine	Alla nascita	Una BMD > 0.068 g/cm ² alla nascita indicava una probabilità del 90,3% di non sviluppare la malattia metabolica ossea. Inoltre, un aumento della BMD era associato ad una maggior età gestazionale e ad un maggior peso alla nascita, a ridotta durata della nutrizione parenterale e ad una nutrizione esclusiva con latte materno fortificato ed correlato ad una riduzione del rischio di sviluppare problematiche perinatali.
I. Ahmad, 2010	Trasversale	102 (63 pretermine e 39 a termine)	A termine	I nati pretermine avevano peso alla nascita, lunghezza, circonferenza cranica, massa magra e grassa e BMD significativamente inferiori rispetto ai nati a termine.

Tabella 2: Studi effettuati in età pediatrica

Autore, anno	Design dello studio	Numero pazienti	Età alla valutazione	BMD	Risultati
Christmann, 2017	Longitudinale	Corte 1 n=63 Corte 2 n=66 nati pretermine	Prime 5 settimane di vita e poi a 6 mesi e a 1, 2, 5 e 9 anni	Confronto coorti (2004 vs 2005) all'età di 9 anni: TBLH BMD= 0.43 vs. 0.35 (differenza media di 0.08 tra 2004 vs. 2005) L1-L4 BMD= -0.036 vs. -0.15 (differenza media di 0.11).	La supplementazione di Ca, P e proteine nei primi 14 giorni di vita non ha sortito effetti sulla BMD.
M. S. Fewtrell, 2000	Longitudinale	244 nati pretermine	A 18 mesi, a 7.5-8.3 anni e a 8-12 anni	BMD Z-score corretto per il peso alla nascita vs 8-12 anni: WB= 0.02 vs 0.51 LS= 0.06 vs 0.50 Collo femore= 0.02 vs 0.42 Radio= -0.13 vs 0.31 BMD Z-score corretto per l'altezza alla nascita vs 8-12 anni: WB= -0.10 vs 0.41 LS= -0.02 vs 0.4 Collo femore= -0.09 vs 0.37 Radio= -0.08 vs 0.27	C'era una correlazione diretta tra massa ossea e dimensioni corporee; ciò suggerirebbe che favorire la crescita lineare in bambini nati pretermine potrebbe essere importante per massimizzare la massa ossea.

L. S. Bowden, 1999	Trasversale	46 nati pretermine	8 anni	<p>BMD: Avambraccio=0.383 vs 0.381 g/cm² LS=0.585 vs 0.599 g/cm² Anca=0.642 vs 0.683 g/cm² Simile a livello di avambraccio e LS ma diversa a livello dell'anca</p>	I bambini ex-pretermine presentavano una significativa riduzione della massa minerale ossea, proporzionata alla loro crescita ridotta e alla ridotta BMD a livello dell'anca.
H. Abou Samra, 2009	Trasversale	24 (nati pretermine, <i>late-preterme</i> e a termine)	5.7-8.3 anni	<p>Confronto tra le aBMD (g/cm²) tra nati a termine (>37 w) vs <i>late-preterm</i> (>34 e ≤37w) vs pretermine (≤34 w): aBMD anca= 0.72±0.02 vs 0.63±0.02 vs 0.62±0.02 aBMD collo del femore= 0.66±0.02 vs 0.57±0.02 vs 0.59±0.02 aBMD LS= 0.60±0.02 vs 0.53±0.02 vs 0.56±0.02</p>	I nati a termine avevano massa ossea e dimensioni ossee maggiori rispetto ai nati pretermine e solo massa ossea maggiore rispetto ai <i>late-preterm</i> .

Tabella 3: Studi effettuati in età adulta

Autore, anno	Design dello studio	Numero pazienti	Età alla valutazione	Risultati
S. R. Dalziel, 2006	Longitudinale	174 (101 nati pretermine e 73 a termine)	31 anni	L'esposizione a betametasona prenatale non aveva alterato il picco di massa ossea e la geometria del femore nell'adulto, mentre un rallentamento della crescita era predittivo di un picco di massa ossea inferiore in età adulta.
M. S. Fewtrell, 2009	Longitudinale	202 nati pretermine seguiti in un follow-up di 20 anni	È stato effettuato un follow-up di 20 anni	Non è stata dimostrata alcuna correlazione tra altezza definitiva e massa ossea a livello della colonna lombare e nutrizione subottimale precoce. Si è osservata però una correlazione positiva tra assunzione di latte materno e la massa ossea del corpo intero.
Li Feng Xie, 2018	Trasversale	190 (101 nati pretermine e 95 a termine)	18-29 anni	BMD Z-score significativamente più basso a livello del collo del femore nei nati pretermine rispetto ai nati a termine. Inoltre, i nati pretermine avevano peso, altezza e massa magra significativamente minori rispetto ai controlli nati a termine (83% dei pretermine avevano raggiunto il target genetico, a differenza del 98% dei nati a termine).
P. Hovi, 2009	Trasversale	283 (144 nati pretermine e 139 nati a termine)	18.5-27.1 anni	Adulti nati pretermine e VLBW avevano una BMD significativamente più bassa rispetto ai coetanei nati a termine.
P. E. Breukhoven, 2011	Trasversale	276 (151 nati pretermine e 125 a termine)	18-24 anni	La prematurità non è risultata essere associata ad una minor BMD nei giovani adulti.

4 STUDIO

4.1 RAZIONALE

La prevalenza della condizione di prematurità è del 12.5% negli USA e del 6.3-7.0% in Italia (46,47). Grazie ai progressi della medicina moderna nel campo delle cure perinatali, la sopravvivenza dei nati pretermine è andata sempre più migliorando in tutto il mondo. Presidi fondamentali che hanno consentito di raggiungere questo successo sono stati sicuramente la somministrazione di steroidi antenatali, per favorire la maturazione polmonare al fine di prevenire la sindrome da distress respiratorio del neonato (RDS), la somministrazione perinatale di surfactante esogeno in neonati con RDS e l'utilizzo di presidi di supporto alla ventilazione come la somministrazione di ossigeno mediante CPAP¹⁴ o, qualora il neonato non respirasse spontaneamente la VPP¹⁵. Anche pratiche come la posposizione del clampaggio del cordone ombelicale, la prevenzione dell'ipotermia, il supporto al sistema cardiovascolare, l'inizio precoce della nutrizione e della somministrazione di amminoacidi, la prevenzione della sepsi e il monitoraggio continuo dei parametri vitali hanno contribuito a ridurre la mortalità di questa fragile popolazione di neonati.

Tuttavia, la condizione di prematurità predispone allo sviluppo di complicanze a breve termine (es. emorragia periventricolare) e a lungo termine, tra le quali figura la malattia metabolica ossea del nato pretermine. In letteratura sono presenti dati contrastanti e talvolta non chiari riguardo l'impatto che la prematurità e alcuni fattori precoci potenzialmente influenzanti la densità minerale ossea (es. essere nati SGA e/o IUGR, gli steroidi prenatali, la modalità di allattamento) presentano sulla salute scheletrica. Per tali ragioni lo studio si prefigge come obiettivo quello di confrontare soggetti nati pretermine con soggetti nati a termine in età prepubere (tra i 4,97 e i 9,88 anni), prima che si esplichino l'influenza degli ormoni sessuali, in modo da determinare possibili fattori di rischio di una ridotta densità minerale ossea.

¹⁴ *Continuous positive airway pressure*

¹⁵ Ventilazione a pressione positiva

4.2 OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo primario: valutare la densità minerale ossea (BMD) sia al rachide che al corpo intero in soggetti nati pretermine confrontandoli con controlli di pari età nati a termine.

Obiettivi secondari:

1. Valutare la BMD in soggetti nati pretermine con potenziali fattori di rischio prenatali (IUGR, steroidi antenatali).
2. Valutare la relazione tra età gestazionale e BMD in soggetti nati pretermine.
3. Valutare la relazione tra peso alla nascita e BMD in soggetti nati pretermine e a termine.
4. Valutare la relazione tra tipologie di allattamento e BMD in soggetti nati pretermine e a termine.
5. Valutare la composizione corporea in termini di massa grassa e magra in soggetti nati pretermine e a termine e determinarne l'impatto sulla massa ossea.

4.3 SOGGETTI E METODI

4.3.1 Disegno dello Studio

Studio trasversale prospettico condotto c/o il reparto di Endocrinologia pediatrica dell'Istituto Giannina Gaslini tra il 2009 e il 2014, in accordo con la Dichiarazione di Helsinki e le normative applicate a livello locale, dopo l'approvazione da parte del Comitato Etico locale avvenuta il 15/04/2010.

4.3.2 Soggetti

4.3.2.1 Criteri di inclusione

Affinché potessero essere inclusi in questo studio, i bambini dovevano essere prepuberi, in età compresa tra i 5 e i 9 anni, con uno stadio di Tanner 1 ed essere nati pretermine prima della trentasettesima settimana di gestazione.

Come controlli sono stati selezionati bambini sani nati a termine (età gestazionale (*gestational age*, GA) ≥ 37 settimane), con età compresa tra i 5 e i 9 anni e con stadio di Tanner 1 (fratelli di bambini arruolati o bambini liberamente interessati a conoscere la loro composizione corporea).

4.3.2.2 *Criteri di esclusione*

I criteri di esclusione erano i seguenti: avere caratteristiche sindromiche o deficit motori, patologie ossee primarie o secondarie, patologie renali o epatiche o celiachia, patologie endocrine e assunzione di terapie che possono interferire con la mineralizzazione ossea e la composizione corporea (es. terapia steroidea).

4.3.2.3 *Procedura di arruolamento*

In base ai criteri di inclusione sono risultati eleggibili 190 neonati pretermine sulla base del registro di Terapia Intensiva Neonatale dell'Istituto Giannina Gaslini (anni di nascita tra il 2001 e il 2008, l'84% dei quali tra il 2003 e il 2007). Tutti i genitori sono stati contattati telefonicamente da un singolo ricercatore e i loro bambini sono stati invitati a partecipare allo studio. Dopo aver accettato di partecipare, è stata inviata una lettera al medico di riferimento di ciascun partecipante che includeva il protocollo dello studio. Il consenso o dissenso informato è stato ottenuto dai genitori e dai bambini, rispettivamente, prima dell'arruolamento nello studio durante la visita ambulatoriale. Dopo la firma, i bambini sono stati sottoposti ad una raccolta anamnestica e ad una valutazione clinica, biochimica e densitometrica (con DXA).

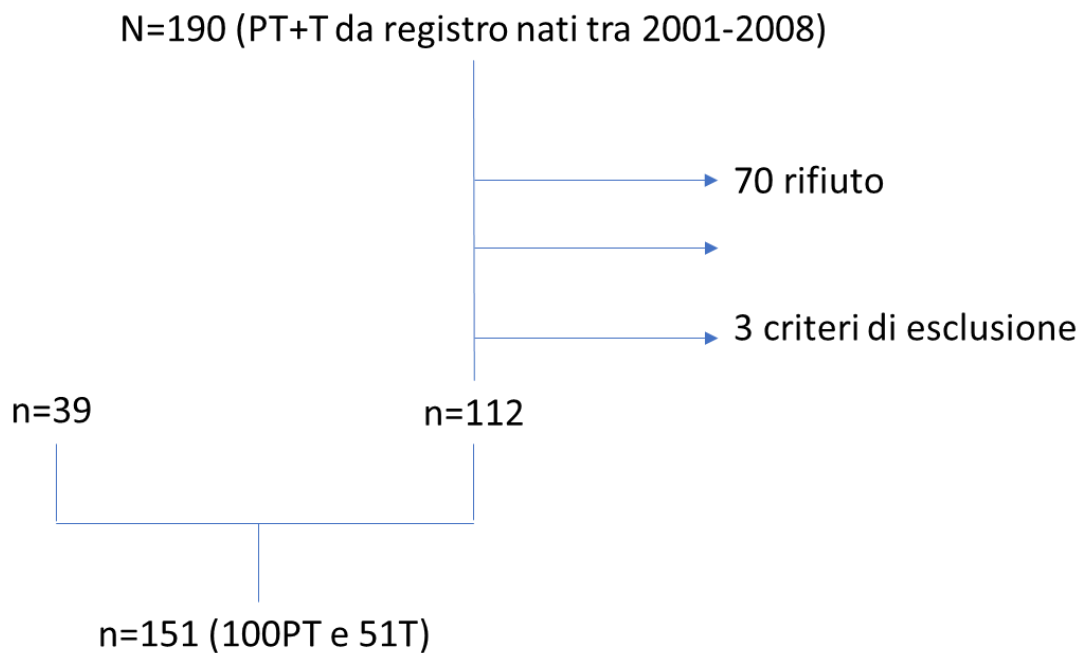
4.3.2.4 *Partecipanti allo studio*

Dalla coorte contattata inizialmente (n=190), 112 famiglie hanno accettato di partecipare allo studio, in quanto 70 hanno rifiutato a causa delle procedure invasive incluse nello studio (prelievi venosi, radiografie...), 5 non hanno potuto raggiungere il nostro ospedale perché trasferitesi in un'altra regione, 3 non hanno rispettato i criteri di arruolamento a causa di patologie croniche (diplegia spastica, malformazioni vascolari con coinvolgimento osseo, artrite idiopatica giovanile). Ulteriori 39 bambini sono stati

aggiunti nell'ambito di controlli endocrinologici, dopo essere risultati sani e dopo il consenso della famiglia.

In base ai criteri sopracitati sono stati arruolati 100 nati pretermine (58 maschi e 42 femmine) e 51 controlli (23 maschi e 28 femmine).

Figura 2. Arruolamento della coorte



4.3.3 Metodi

4.3.3.1 Valutazione anamnestica

Sono stati raccolti dati dalle cartelle cliniche dei neonati e dall'anamnesi familiare includendo anamnesi ostetrica (patologie materne, uso di alcol o altre sostanze d'abuso, fumo, profilassi steroidea prenatale), caratteristiche del parto (età gestazionale -GA, lunghezza e peso alla nascita, gestazioni multiple, tipo di parto), nutrizione neonatale (durata della nutrizione parenterale totale, tipo di nutrizione -formula, allattamento al seno-), supplementazione di vitamina D, durata della ventilazione meccanica, terapia steroidea, diagnosi di displasia broncopolmonare, sepsi e conseguente antibioticoterapia.

Inoltre, sono stati ottenuti in sede anamnestica dai genitori dati riguardanti l'attività fisica dei bambini.

I neonati pretermine sono stati classificati in base all'età gestazionale in pretermine moderati (n=53, con GA tra le 37 e le 32 settimane), molto pretermine (n=43, GA tra le 32 e le 28 settimane) ed estremamente pretermine (n=4, GA sotto le 28 settimane).

Sulla base del peso alla nascita, i bambini sono stati anche divisi in LBW (n=44, <2500g), VLBW (n=32, <1500g) e ELBW (n=15, <100g); inoltre, sono stati classificati come nati IUGR (n=27, dei quali 21 pretermine e 6 nati a termine), quando il peso fetale stimato in percentili misurato mensilmente a partire da metà gestazione fino alla nascita era ridotto con una perdita superiore al 20° percentile.

Sono stati inoltre classificati come SGA (n=13, di cui 7 pretermine e 6 nati a termine) se di peso inferiore alle -2 SDS, basandosi sulle curve di crescita neonatali secondo Bertino (48). Solo 2 neonati pretermine risultavano LGA con un peso al di sopra le 2 SDS. I restanti 91 pretermine e 45 nati a termine sono stati considerati AGA.

4.3.3.2 Valutazione Clinica

Tutti i bambini sono stati misurati in altezza (cm, con approssimazione a 0.1cm), peso (kg, SDS) e circonferenza cranica (cm, SDS) in base ai dati di riferimento di Tanner (49). Il BMI (kg/m²) è stato espresso in SDS in base alle curve di Cacciari (50). L'altezza target dei genitori è stata espressa mediante SDS secondo Tanner ¹⁶.

4.3.3.3 DXA

Mediante DXA (Lunar Prodigy, GE) sono stati misurati BMC (g), BMD (g/cm², Z-score), BA (cm²), massa magra (kg) e massa grassa (kg, %) a livello del corpo intero esclusa la testa (*whole body less-head*, WBLH); BMC, BMD e BA sono stati anche valutati al livello del rachide lombare (L1-L4-L5). Il coefficiente di variazione a livello dei due siti scheletrici cade in un intervallo compreso tra 1.0% e 1.6% per il BMD e tra 0.3% e 3% per il BMC.

A livello L1-L4 è stato calcolato il BMAD mediante la formula di Carter¹⁷ e convertito in Z-score (51), mentre il WB BMC è stato espresso in rapporto all'altezza, alla BA o alla

¹⁶ Target genetico= (altezza materna + altezza paterna +13 se maschio oppure -13 se femmina)/2

¹⁷ : <https://courses.washington.edu/bonephys/opBMAD.html>

massa muscolare in modo tale da correggerlo per le dimensioni dello scheletro e dell'unità muscolo-scheletrica (8). L'esposizione alle radiazioni era di 0.30 microSv per ogni esame e ogni giorno è stato effettuato il controllo qualità previsto dallo strumento DXA.

4.3.3.4 Radiografia (Rx) del carpo di sinistra

L'Rx al polso e mano di sinistra è stata effettuata in 104 soggetti per valutare l'età ossea mediante il metodo di Greulich e Pyle (52). Quarantasette famiglie (di 31 pretermine e 16 nati a termine) non hanno dato il loro consenso per l'Rx.

4.3.3.5 Misurazioni di laboratorio

Sono stati raccolti campioni di urine e sangue al mattino a digiuno, analizzando: P (mEq/L), Ca (mEq/L), Mg (mEq/L) con tecnica fotometrica; vitamina D (ng/dL) con tecnica di elettrochemiluminescenza; PTH (mg/dL) con tecnica di chemiluminescenza; ALP (mg/dL) con test enzimatico con il metodo IFCC; fosfatasi alcalina ossea (*bone alkaline phosphatase* -BAP) (UI/L), telopeptide C-terminale (Ctx, ng/ml) utilizzando *crosslaps* sierici e test ELISA rispettivamente (53); Ca e P urinari (mEq/kg/die) e creatinina urinaria (mg/dL) con tecnica potenziometrica. 5 pretermine e 4 nati a termine non hanno effettuato le analisi del sangue.

4.3.3.6 Dimensione del campione

La determinazione della dimensione del campione si è basata sull'*outcome* primario ed è stata valutata utilizzando dati riguardanti la BMD tratti dalla letteratura (54). La nostra ipotesi si è basata sull'evidenza di alcuni autori che hanno riscontrato un BMD di $0.574 \pm 0.073 \text{ g/cm}^2$ in 15 bambini nati a termine e una BMD significativamente più bassa di $0.542 \pm 0.065 \text{ g/cm}^2$ in 20 bambini nati pretermine all'età di 7 anni. Considerando le prevedibili difficoltà nel reclutare soggetti sani nati a termine, si è deciso di applicare il calcolo delle dimensioni del campione del modello non bilanciato (errore di tipo 1 di 0.05, potenza di 0.8, differenza media per la BMD (g/cm^2) di 0.032, con una deviazione standard di $0.065 \text{ (g/cm}^2\text{)})$ reclutando 150 soggetti di cui 50 bambini nati a termine e 100 nati pretermine (arruolamento sbilanciato 1:2).

L'analisi di potenza statistica è stata effettuata mediante nQuery Advisor, versione 5.0.

4.3.3.7 *Analisi statistica*

I valori di BMD ottenuti dalla DXA sono stati espressi in entrambi i gruppi in Z-score, correggendo per età e sesso in base ai dati della popolazione di riferimento forniti direttamente dal produttore (Lunar Prodigy). I dati sono stati descritti come frequenze assolute e relative per le variabili categoriche, mentre sono stati usati medie, SD, intervalli di confidenza (CI), mediane e range per le variabili continue. La normalità di distribuzione è stata determinata utilizzando il test di Kolgomor-Smirnov. Per determinare le differenze tra nati a termine e pretermine è stato utilizzato il test t di Student oppure il test non parametrico di Mann–Whitney. I parametri dei gruppi di studio sono stati comparati utilizzando il test esatto di Fisher per variabili categoriche. Le correlazioni sono state testate usando i coefficienti di correlazione di Spearman/Pearson. Le variabili perinatali e dell'età prepubere che risultavano significativamente correlate con gli *outcome* ossei al momento dello studio sono stati aggiunti modellati mediante analisi di regressione lineare multipla allo scopo di definire predittori significativi. Una *p-value* < 0.05 era considerata statisticamente significativa, e tutte le *p-value* erano basate su un test a due code. L'analisi statistica è stata fatta utilizzando SPSS per Window (SPSS Inc, Chicago, Illinois USA).

4.4 RISULTATI

4.4.1 Soggetti

4.4.1.1 *Caratteristiche prenatale della coorte, fratture e attività fisica (tabella 4)*

Sono stati reclutati 100 bambini prepuberi ex-pretermine e 51 controlli nati a termine all'età media di 6.7 ± 1.3 anni (range tra 5 e 9 anni). Tra gli ex-pretermine il 53% erano pretermine moderati, il 43% molto pretermine e il 4% estremamente pretermine. Complessivamente i neonati pretermine avevano un peso alla nascita significativamente minore rispetto ai controlli: in particolare 44% erano LBW, 32% VLBW e 15% ELBW

($p < 0.0001$), mentre SGA e AGA erano ugualmente distribuiti tra i pretermine (7% e 91% rispettivamente) e i nati a termine (11.7% e 88.3%); solo il 2% dei pretermine erano LGA.

La condizione di IUGR era ugualmente distribuita tra i pretermine e i nati a termine (21.0% e 11.8% rispettivamente; $p = 0.16$). Per quanto riguarda la nutrizione, 20 pretermine e 23 nati a termine erano stati allattati con latte materno, 60 pretermine e 13 a termine con formula, mentre 20 pretermine e 15 pretermine con entrambi.

Una profilassi steroidea prenatale è stata somministrata (una o 2 dosi da 12 mg di betametasona intramuscolo) a 55 madri per prevenire l'RDS neonatale.

I nati pretermine presentavano una età scheletrica significativamente minore rispetto ai nati a termine ($P = 0.003$). Non si sono invece riscontrate differenze significative tra nati a termine e pretermine per quanto riguarda l'età cronologica, la distribuzione di genere e il numero di ore settimanali di attività fisica.

Entrambe le coorti avevano una prevalenza comparabile di fratture traumatiche al momento dello studio (7% in ogni gruppo).

4.4.2 Parametri antropometrici (tabella 4)

Non si sono rilevate differenze significative nelle misurazioni antropometriche tra le due coorti, ad eccezione di una minor circonferenza cranica nei pretermine ($p = 0.001$).

L'altezza (espressa in SDS) è risultata adeguata al target genetico in 50 nati a termine e in 96 pretermine per i quali le altezze dei genitori erano disponibili. Si è rilevata una minore altezza target nei nati pretermine rispetto ai controlli (differenza di -0.27 SDS, $p = 0.06$).

Tabella 4. Caratteristiche di 100 bambini ex-pretermine e 51 nati a termine.

	Preterm ($n=100$)	At term ($n=51$)	P-value
	Mean\pmSDS	Mean\pmSDS	
Characteristics at birth			
Gestational Age (weeks)	31.5 \pm 2.6	39.1 \pm 1.3	0.001
Birth weight (Kg)	1557.0 \pm 534.1	3066.6 \pm 429.4	<0.0001

	N (%)	N (%)	
Gender M/F	58 /42 (58/42)	23/28 (45/55)	0,13
MP/VP/EP°	42/47/11 (42/47/11)	0/0/0	<0.0001
IUGR (yes/no)	21/79 (21.0)	6/45 (11,8)	0,16
NW/LBW/VLBW/ELBW*	5/47/33/15 (5/47/33/15)	45/6/0/0 (88,2/11,8)	<0.0001
AGA/SGA/LGA**	91/7/2 (91/7/2)	45/6/0 (88.2/11.8)	0.38
Antenatal steroid prophylaxis (yes/no)	55/44 (n=99)	0/51	<0.0001
Exclusive breastfeeding (yes/no)	20/80 (20.0)	23/26 (n=49) (46.9)	0.0004
Exclusive formula (yes/no)	60/40 (60.0)	16/33 (n=49) (32.7)	0.001
Mixed breastfeeding and formula (yes/no)	20/100 (20.0)	10/39 (n=49) (20.4)	0.14
Characteristics at the time of the study	M ± SDS	M ± SDS	
Age (years)	6.6±1.2	6.9±1.4	0.15
Height (SDS)	-0.1±1.1	-0.2±1.3	0.77
Target height (SDS)	-0.3±0.8	-0.0±0.9	0.06
BMI (SDS)	-0.8±1.8	0.0±1.4	0.2
Head circumference (SDS)	-0,52 ± 1,34 (n=67)	0,86 ± 1,25 (n=24)	0,001
Bone age (years)#	6.0±1.6 (n=69)	6.2±1.7 (n=35)	0.003
Physical activity (hours/week)	2.2±1.2	2.1±0,9	0,58
	N (%)	N (%)	
Fractures (yes/no)	6/81(6.9) (n=87)	3/39 (7.1) (n=41)	0.75

Significance based on CHI-SQUARE or UNPAIRED T-Test.

°MP moderate preterm (between 37 and 32 weeks); VP very preterm (< 32 weeks); EP extremely preterm (<28 weeks).

*NW normal weight; LBW Low Birth Weight <2500 gs; VLBW Very Low Birth Weight <1500 gs; ELBW Extremely Low Birth Weight <1000 g . ** Appropriateness for age: AGA appropriate for gestational age, LGA large for gestational age, SGA small for gestational age.

#Bone age based on Greulich &Pyle evaluation.

4.4.3 Parametri ossei misurati mediante DXA

I parametri ossei misurati con la DXA non erano significativamente differenti tra le due coorti, sia a livello di WB sia di L1-L4. In particolare, la BMD e il BMC WB tendevano ad essere inferiori nei pretermine (p=0.07), anche dopo correzione per la BA (p=0.07), altezza o massa muscolare (entrambi p=0.09), ma non dopo la correzione per l'altezza SDS (p=0.99) (Tabella 5).

Utilizzando la formula di Carter, anche al rachide, dopo correzione per le dimensioni vertebrali, non si evidenziava alcuna differenza significativa, né tra femmine e maschi (dati non mostrati), né tra pretermine e nati a termine.

I due gruppi non si differenziavano per parametri di composizione corporea; tuttavia, analizzando differenze di genere, emergeva che i maschi avevano una massa magra significativamente maggiore rispetto alle femmine ($p=0.05$) e le femmine una percentuale di massa grassa maggiore rispetto ai maschi ($p=0.001$) (dati non mostrati).

Tabella 5. Parametri di mineralizzazione ossea e composizione corporea ottenuti mediante DXA in 100 bambini ex-pretermine e 51 nati a termine.

	Preterm M ± DS	At Term M ± DS	P- value
Total Body (TB)			
BMD (g/cm ²)	0.65±0.06	0.67±0.07	0.07
BMD (Z-score)	-0.15±0.91	0.00 ± 1.07	0.37
BMC (g)	480.7±165.3	524.4±193.30	0.15
BMC/ht (g/cm)	4.00±1.16	4.36±1.26	0.09
BMC/area (g/cm ²)	0.65±0.06	0.67±0.07	0.07
BMC/kg Fat-Free Mass (g/kg)	33.65±5.17	35.23±5.97	0.09
Bone Area (cm ²)	726.87±180.16	765.39±201.16	0.23
Spine L1-L4			
BMD (g/cm ²)	0.62±0.09	0.64±0.11	0.21
BMD (Z-score)	-0.46±0.95	-0.32±1.24	0.47
BMC (g)	16.44±3.84	16.99±4.72	0.45
BMC/ht (g/cm)	0.14±0.03	0.14±0.03	0.38
Bone Area (cm ²)	33.65±5.17	35.23±5.97	0.09
BMAD (g/cm ³)	0.239±0.031 (n=97)	0.247±0.036 (n=47)	0.14
BMAD Z-score	-0.77±1.17 (n=97)	-0.54±1.35 (n=47)	0.29

Body Composition			
Total Fat Mass (Kg)	4163.2±3810.8	4712±3869.7	0.13
Total Fat Mass (%)	20.1±10.3	22.0±10.0	0.25
Total Free-Fat mass (Kg)	13967±2928.2	14504±3251.7	0.31

BMAD: apparent bone mineral density, based on Carter's formula.

4.4.4 Determinanti prenatali e neonatali

4.4.4.1 IUGR

Basandoci sul pattern di crescita intrauterino, bambini con IUGR (17% della coorte totale) erano significativamente più bassi (altezza SDS, $p=0.006$) rispetto ai soggetti non IUGR, anche se proporzionati con la loro altezza target; tendevano anche ad avere un peso minore (BMI SDS $p=0.07$) con una massa grassa significativamente inferiore ($p=0.01$) (dati non mostrati).

Inoltre, i bambini IUGR mostravano valori di WB BMD, BMD Z-score ($p=0.001$) e un BMC sia WB sia L1-L4 ridotti (Figura 3, pannelli a e b) rispetto ai bambini non IUGR anche dopo correzione per altezza, massa muscolare, BA ($p<0.02$ per tutti). Anche la BMD al rachide tendeva ad essere inferiore ($p=0.06$). Tenendo però conto dell'altezza SDS e del BMAD (g/cm^3) e BMAD Z-score (non IUGR -0.65 ± 1.51 vs IUGR -0.90 ± 1.51 , $p=0.32$) per correggere la BMD per le dimensioni dei soggetti, rispettivamente al WB e al L1-L4, non emergeva più alcuna differenza significativa.

4.4.4.2 Profilassi steroidea prenatale e nutrizione

I bambini trattati con profilassi steroidea prenatale hanno mostrato dei parametri ossei misurati alla DXA significativamente più bassi rispetto ai bambini non trattati, sia a livello di WB (anche dopo correzione del BMC per altezza/massa magra) sia alla colonna: in particolare, si è osservata una differenza tra trattati e non trattati di 0.47 del WB BMD Z-score ($p=0.016$), di 0.39 del L1-L4 BMD Z-score ($p=0.03$) e di 0.55 del BMAD Z-score ($p=0.01$) (figura 4).

Tenendo in conto la nutrizione, i bambini allattati al seno hanno mostrato valori DXA (ad eccezione del BMAD) significativamente più alti rispetto ai bambini allattati con formula o con latte materno e formula combinati (Figura 3, pannelli c e d).

Infatti, la profilassi steroidea prenatale nei pretermine e la nutrizione esclusivamente con latte materno sia nei pretermine sia nei nati a termine erano, rispettivamente, negativamente (range tra -0.16 e -0.39, $p < 0.04$ per tutti) e positivamente (range tra 0.18 e 0.29, $p < 0.02$ per tutti) associati a tutti i parametri ossei.

Figura 3. BMD e BMC al corpo intero e al rachide in soggetti nati IUGR sì/no e in soggetti allattati esclusivamente con latte materno sì/no.

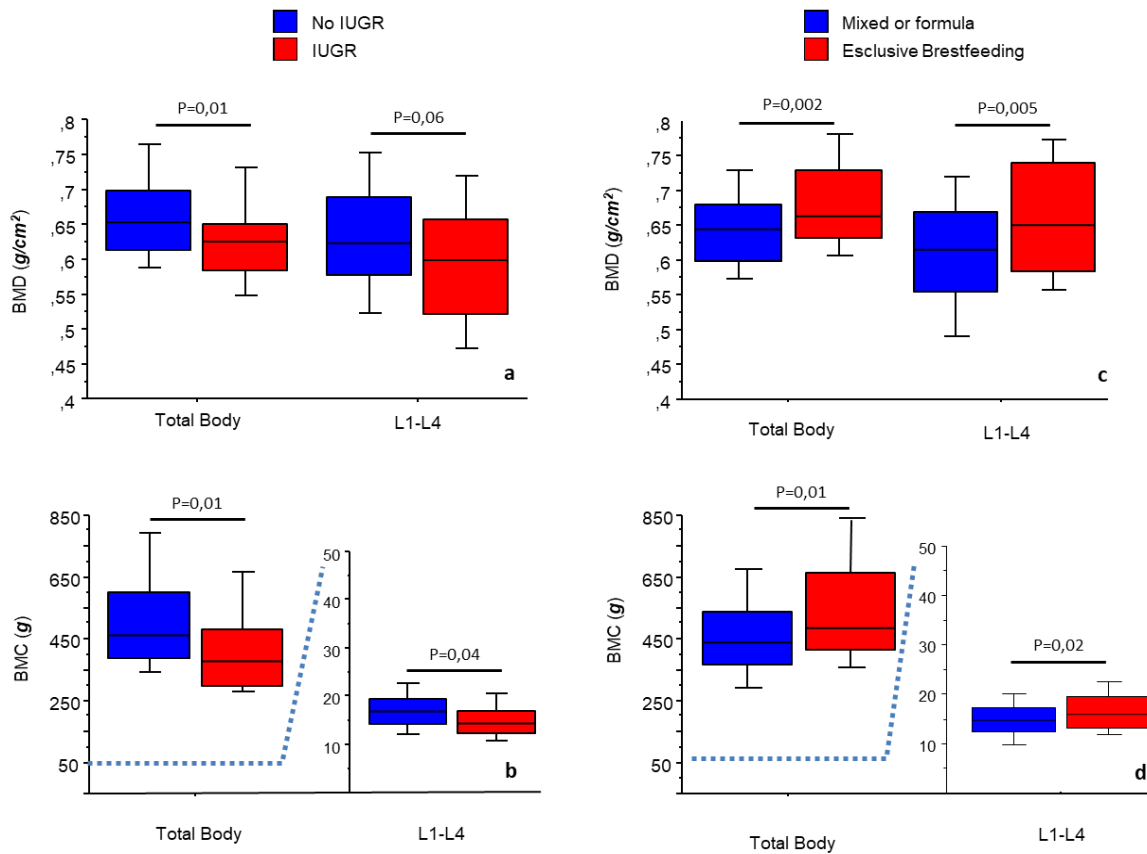
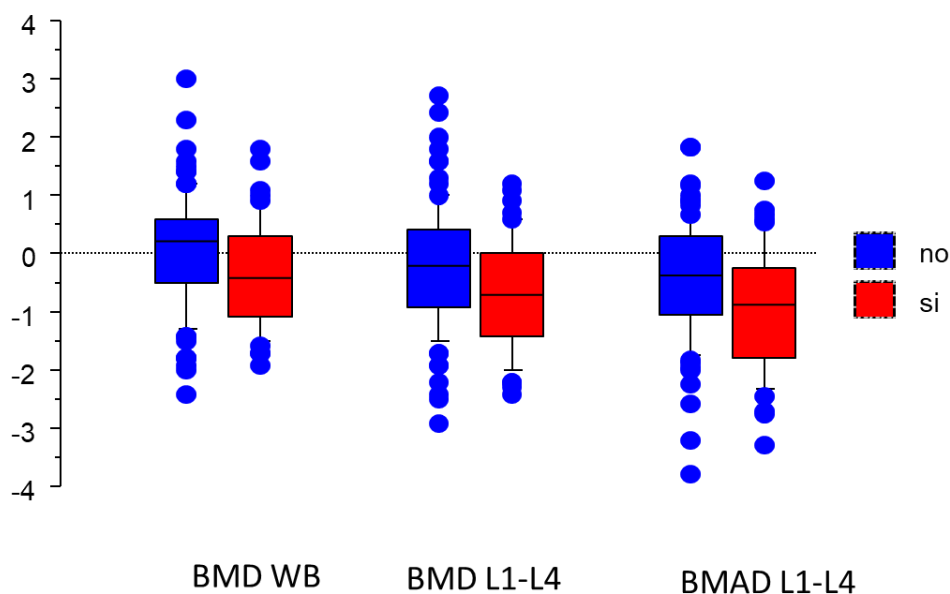


Figura 4. BMD al corpo intero, BMD e BMAD al rachide in soggetti sottoposti a profilassi steroidea prenatale sì/no.



4.4.5 Età gestazionale (GA)

All'età di 7 anni si è ancora trovata una correlazione tra i parametri ossei WB (BMC, BMD e BMD Z-score) e l'età gestazionale nei nati pretermine (range 0.22-0.31 per Z-score e $p < 0.02$) (Tabella 6).

4.4.5.1 Parametri antropometrici

Non si sono riscontrate differenze in relazione ai parametri antropometrici tra estremamente pretermine, molto pretermine, moderatamente pretermine e i controlli.

4.4.5.2 Parametri DXA whole body

Gli estremamente pretermine e i molto pretermine tendevano ad avere parametri ossei alla DXA comparabili a livello di WB, ma che erano più bassi comparandoli con i moderatamente pretermine e i controlli: in particolare, i molto pretermine hanno mostrato una riduzione di 0.4 WB BMD Z-score rispetto ai moderatamente pretermine ($p=0.03$); una WB BMD inferiore di 0.028 g/cm^2 ($p=0.04$), un WB BMC/altezza inferiore di 0.51 g/cm ($p=0.05$) e un WB BMC/area inferiore di 0.028 g/cm^2 rispetto ai controlli.

4.4.5.3 Parametri DXA L1-L4

Non si sono riscontrate differenze tra le differenti GA, in relazione ai parametri ossei misurati con DXA a livello di L1-L4.

4.4.5.4 Parametri DXA di composizione corporea

Gli estremamente pretermine tendevano ad avere una massa grassa inferiore del 4.5%, 5.0% e 7.0% rispetto ai moderatamente pretermine, molto pretermine e controlli, rispettivamente ($p=0.06$) e massa magra inferiore del 2.5%, 3.2% e 3.8% rispetto ai moderatamente pretermine, molto pretermine e controlli, rispettivamente ($p=0.10$).

4.4.6 Peso alla nascita

Basandoci sulla classificazione sul peso alla nascita, i bambini SGA pretermine hanno mostrato un maggior WB BMD Z-score e misure simili degli altri parametri ossei rispetto ai bambini SGA nati a termine; in contrasto, i pretermine AGA presentavano dei WB BMD e BMC inferiori rispetto ai nati a termine AGA. Tutti i gruppi di peso hanno mostrato valori DXA ossei simili a livello assiale, indipendentemente dal fatto di essere nati pretermine o a termine.

Sebbene non si siano dimostrate differenze tra bambini AGA e SGA per quanto riguarda i parametri ossei misurati con DXA se presa in considerazione l'intera coorte, tuttavia, si è osservata una significativa correlazione positiva tra BMC, BMD e BMD Z-score nel momento della valutazione e peso alla nascita, sia a livello di WB (range 0.25-0.29, $p<0.002$) sia alla colonna (range 0.16-1.19, $p<0.05$); le correlazioni positive persistono nei bambini nati pretermine e soprattutto nei nati a termine, nei quali è associata anche a L1-L4 (Tabella 6).

Tabella 6. Correlazioni tra i parametri DXA a livello di TB e colonna L1-L4, marcatori di *turnover* osseo e principali caratteristiche alla nascita in 100 bambini prepuberi ex-pretermine e 51 nati a termine.

	<i>Total Body BMC</i>		<i>Total Body BMD</i>		<i>L1-L4 BMC</i>		<i>L1-L4 BMD</i>	
	<i>PT</i>	<i>BT</i>	<i>PT</i>	<i>BT</i>	<i>PT</i>	<i>BT</i>	<i>PT</i>	<i>BT</i>
<i>Early covariates</i>								
Gestational Age	0.22*	0.19	0.24**	0.17	0,09	0.16	0.16	0.13
Birth weight (Kg)	0.25**	0.42*	0.27*	0.34**	0.13	0.34**	0.16	0.26
IUGR (yes=1/no=0)	-0.24**	-0.08	-0.28*	-0.03	-0.24°	-0.03	-0.23**	0.02
ASP (yes=1/no=0) [#]	-0.29*	-	-0.27*	-	-0.21°	-	-0.24**	-
Exclusive Breastfeeding (yes=1/no=0)	0.14	0.21	0.24**	0.21	0.14	0.23	0.15	0.30°
<i>Actual Bone turnover markers</i>								
BAP (U/L)	0.23**	0.48*	0.19	0.39**	0.27**	0.43*	0.17	0.17
Ctx (pg/ml)	0.07	0.36	0,11	0.38**	0.08	0.25	0.12	0.29

* P<0.01; **P<0.05

[#]ASP: Antenatal steroid prophylaxis

4.4.7 Correlazioni e analisi di regressione multipla

Il BMC e la BMD a livello sia di WB sia a L1-L4 correlavano significativamente e in egual misura sia nei bambini nati pretermine sia nei nati a termine con l'età, i parametri antropometrici e di composizione corporea nel momento dello studio (range 0.44-0.99 a livello di WB, $p < 0.001$ per tutti e range 0.36-0.71 alla colonna, $p < 0.05$ per tutti). I parametri a livello di WB erano direttamente proporzionali alla GA e inversamente proporzionali alla presenza di IUGR e profilassi con steroidi prenatali, presi come covariate, ma solo nei nati pretermine, mentre erano moderatamente correlati con il peso alla nascita nei nati a termine e poco nei bambini nati pretermine (Tabella 6). Si sono ritrovate associazioni simili tra IUGR o profilassi steroidea prenatale per il BMC e la BMD a livello di L1-L4; al contrario, la GA non era più correlata e il peso alla nascita era associato solo nei neonati a termine. L'allattamento esclusivamente con latte materno era significativamente associato con il WB BMD nei nati a termine; entrambi i marker di turnover osseo correlavano moderatamente con il WB BMD solo nei bambini nati a termine, nei quali i valori del telopeptide C-terminale (Ctx) tendevano anche ad essere associati al BMC (WB: $p=0.06$; colonna: $p=0.16$) e al L1-L4 BMD ($p=0.10$).

4.4.7.1 Modelli 1 e 2

Nei Modelli di analisi di regressione multipla sono state valutate e messe a confronto la coorte intera ($n=151$) con la coorte dei nati pretermine ($n=100$).

Una condizione di IUGR, la profilassi steroidea prenatale e l'allattamento al seno sono stati selezionati nel Modello 1 delle analisi di regressione multipla come covariate per la predizione dei parametri ossei nella coorte totale e nel gruppo dei pretermine; nel Modello 2 i determinanti della massa ossea come età al momento dello studio, altezza (cm), massa grassa (kg) e massa magra (kg) erano stati aggiunti previa correzione per la GA. Le variabili dipendenti analizzate in entrambi i Modelli sono WB BMC, WB BMD e L1-L4 BMAD (Tabella 7).

Dal Modello 1 si evince che la profilassi steroidea prenatale era un predittore indiretto del WB BMC sia nella coorte totale sia in quella dei pretermine, della WB BMD nel gruppo dei pretermine e della L1-L4 BMAD in entrambe le coorti. La IUGR era un predittore

indiretto della WB BMD in entrambe le coorti, ma non del WB BMC e della L1-L4 BMAD. L'allattamento esclusivo al seno era un predittore indiretto della WB BMD e della L1-L4 BMAD solo nella coorte totale, ma non del WB BMC (Tabella 7).

Dopo correzione per GA, il Modello 2 ha mostrato che solamente la massa magra era predittore diretto di WB BMD e BMC sia nella coorte totale sia nel gruppo dei pretermine, mentre l'allattamento esclusivo al seno è risultato essere predittore diretto della WB BMD solamente nella coorte totale e la massa grassa predittore diretto per il WB BMC sia nella coorte totale sia nel gruppo dei pretermine (Tabella7).

Il Modello 2 è stato poi replicato inserendo il peso alla nascita al posto della IUGR e della GA: complessivamente le predizioni dei parametri ossei alla DXA sono rimasti gli stessi, però i determinanti precoci non erano più predittivi (Modelli non mostrati).

Tabella7. Analisi di regressione multipla per la predizione dei parametri di densità ossea TB mediante DXA nella coorte totale (nati pretermine e nati a termine, PT e BT) e nei 100 bambini pretermine.

MODEL 1	Total cohort		Preterm	
	<i>Std β</i>	<i>P</i>	<i>Std β</i>	<i>P</i>
Whole body BMC				
Antenatal steroid prophylaxis	-0.192	0.021	-0.238	0.012
IUGR	-0.134	0.10	-0.181	0.07
Exclusive breastfeeding	0.138	0.095	0.113	0.25
R² adjusted		0.083		0.10
Whole body BMD				
Antenatal steroid prophylaxis	-0.185	0.099	-0.211	0.03
IUGR	-0.134	0.024	-0.213	0.03
Exclusive breastfeeding	0.192	0.019	0.190	0.05
R² adjusted		0.11		0.14
BMAD L1-L4 (n=141-96)				
Antenatal steroid prophylaxis	-0.428	0.051	-0.535	0.028
IUGR	-0.017	0.949	-0.148	0.612
Exclusive breastfeeding	0.512	0.028	0.381	0.192
R² adjusted		0.058		0.057
MODEL 2				
Whole body BMC				
Gestational age	0.070	0.02	0.063	0.05
Antenatal steroid prophylaxis	0.058	0.06	0.059	0.07
IUGR	-0.18	0.45	-0.027	0.35
Exclusive breastfeeding	0.022	0.36	-0.022	0.43
Age	0.099	0.003	0.119	0.004
Height	0.251	0.0002	0.233	0.004
Fat Mass	0.224	<0.0001	0.224	<0.0001
Free Fat Mass	0.489	<0.0001	0.504	<0.0001
R² adjusted		0.93		0.93
Whole body BMD				
Gestational age	0.115	0.03	0.118	0.04
Antenatal steroid prophylaxis	0.080	0.14	0.087	0.13

IUGR	-0.029		0.48		-0.057		0.27
Exclusive breastfeeding	0.085		0.046		0.058		0.25
Age	0.156		0.008		0.129		0.08
Height	0.212		0.06		0.287		0.04
Fat Mass	0.046		0.41		0.052		0.45
Free Fat Mass	0.520		<0.0001		0.466		0.0007
R² adjusted		0.77				0.78	
BMAD L1-L4 (n=140-95)							
Gestational age	0.002		0.886		0.077		0.137
Antenatal steroid prophylaxis	-0.250		0.376		-0.233		0.400
IUGR	-0.005		0.986		-0.127		0.671
Exclusive breastfeeding	0.400		0.090		0.189		0.520
Age	0.198		0.096		0.196		0.187
Height	-0.033		0.326		-0.017		0.684
Fat Mass	0.001		0.481		0.014		0.287
Free Fat Mass	0.145		0.099		0.066		0.517
R² adjusted		0.122				0.126	

4.4.8 Esami di laboratorio

Al momento dello studio non si sono riscontrate differenze tra bambini nati pretermine e nati a termine riguardo i seguenti parametri: Ca, Mg, vitamina D, PTH, ALP totale e marcatori di turnover osseo (BAP e Ctx). Solo i fosfati erano significativamente più alti nei pretermine ($p=0.01$). Nelle analisi di regressione semplice l'ALP nei bambini pretermine ($p=0.01$, R^2 : 0.067) e nei nati a termine ($p=0.004$, R^2 : 0.18) e la BAP nei pretermine ($p=0.04$, R^2 : 0.048) e nei nati a termine ($p=0.005$, R^2 : 0.24) erano significativamente predittivi del WB BMC. Dopo correzione per altezza SDS ($p<0.0001$, β : 76.33) la BAP ($p=0.05$, β : 0.931) è rimasta un parametro significativo solo nei bambini pretermine ($p<0.0001$, $\text{adj}R^2$: 0.296).

4.5 DISCUSSIONE

L'ottimizzazione della mineralizzazione ossea è di fondamentale importanza nei neonati in generale e in quelli pretermine in particolare, i quali non possono beneficiare completamente della diffusione transplacentare di calcio e fosforo che avviene principalmente durante l'ultimo trimestre di gestazione. Dati relativi agli outcomes ossei a lungo termine nei bambini ex pretermine sono contrastanti, e probabilmente risentono anche dell'epoca di nascita. È noto che le strategie di alimentazione e di *Care* dei neonati pretermine è evoluto molto rapidamente negli ultimi decenni e probabilmente riscontri degli anni precedenti sono destinati a non essere attualmente rilevati; tuttavia, alcuni fattori di rischio importanti, come un basso peso alla nascita, un'estrema prematurità o fattori iatrogeni potrebbero ancora essere determinanti della densità minerale ossea in epoche successive. Obiettivo del nostro studio è stato quindi valutare l'impatto di determinanti perinatali e postnatali in bambini nati pretermine in una fascia di età ristretta, tra i 5 e i 9 anni di età, al fine di ridurre fattori confondenti associati all'impatto degli steroidi sessuali sull'osso e studiare gli *outcome* ossei in un periodo distante dalla nascita, ma precedente all'avvento della pubertà. Valutando la bibliografia disponibile in base agli anni, gli studi intrapresi durante la decade 1990-2000 hanno dimostrato che neonati ex-pretermine tendevano ad avere una lunghezza e una massa ossea inferiori rispetto ai coetanei nati a termine (30,55,56). Studi condotti in epoca scolare hanno mostrato in bambini ex-pretermine valori di BMC e area corticale della tibia distale, un sito osseo a

netta prevalenza corticale, misurati mediante pQTC, valori inferiori rispetto a bambini nati a termine, anche dopo correzione per peso e dimensioni dello scheletro al momento dell'esame (57). Nello studio condotto da Samra et al. in 25 bambine di 8 anni ex-pretermine, invece, si era osservata una BMD mediante DXA più bassa a livello dell'anca e della metafisi del radio rispetto a 50 controlli misti, suggerendo un'apparente compromissione della mineralizzazione ossea a livello di siti ossei a prevalenza trabecolare, ma non in quelli a prevalenza corticale, come le diafisi radiali e femorali (58). La mancanza di recupero della crescita minerale ossea in 13 bambine seguite in *follow-up* per un anno ha contribuito ad avvalorare questi risultati. Valutando studi successivi della decade 2000-2010 in bambini di 7 anni ex-pretermine si è osservato un ridotto spessore e area corticale alla pCT, minor WB BMC e una minor aBMD a livello dell'anca, corroborando l'ipotesi che i bambini nati pretermine hanno massa, sia corticale che trabecolare, e dimensioni ossee ridotte rispetto a quelli nati a termine (31).

Presi tutti assieme, questi risultati suggeriscono la presenza di difetti persistenti della massa ossea rilevati mediante diverse tecniche densitometriche, sia in bambini sia in bambine in età scolare, a livello di diversi siti scheletrici, almeno fino agli anni 2010.

In contrasto con alcuni studi (25,30,31,57,59,60), nel nostro studio che ha incluso 100 bambini nati pretermine attorno agli anni 2001-2008, abbiamo rilevato complessivamente mediante DXA una BMD sia al rachide che al corpo intero (quindi sia in siti a prevalenza di osso corticale sia in siti a prevalenza di osso trabecolare) nella norma per l'età e sesso e non differente rispetto a 51 controlli sani ad un'età media di 7 anni. Studi recenti hanno dimostrato che un minor BMC nei pretermine era appropriato alle dimensioni scheletriche almeno fino ai 18 mesi di età, rilevando quindi una ridotta BMC secondaria ad una lunghezza inferiore; nei nostri bambini si è dimostrato un perfetto recupero nella crescita in età prepuberale, raggiungendo un'altezza normale per età, sesso e target genetico e perfettamente in linea con i controlli; inoltre, non è stata rilevata alcuna differenza nell'età scheletrica tra i due gruppi. Questo è stato il primo studio che ha corretto la statura per l'altezza dei genitori e ha valutato l'età ossea alla luce dell'interpretazione della massa ossea in bambini ex-pretermine: l'altezza target è un tratto genetico ben conosciuto, come anche la massa ossea (60-80%), ed è fondamentale per una corretta valutazione dell'altezza in soggetti in età pediatrica.

Da annotare solo una lieve tendenza verso la riduzione dei parametri ossei nei siti a prevalenza corticale (WB), che è stata confermata anche dopo correzione per le dimensioni ossee espresse come rapporti di BMC per altezza in cm, per BA e per massa muscolare; e, in misura minore, per altezza SDS, il miglior metodo per valutare il WB BMC tenendo in conto statura, età e sesso. In contrasto, il BMAD Z-score, parametro correttivo delle dimensioni dei somi vertebrali, è risultato comparabile nei due gruppi. Dato interessante, i valori di BMD rilevati nei nostri soggetti era superiore rispetto a quella riportata nel lavoro di Chang et al utilizzato per il calcolo di potenza del nostro studio, con valori di 0.574 g/cm² in bambini nati a termine e una BMD significativamente più bassa di 0.542 g/cm² in nati pretermine all'età di 7 anni.

4.5.1 Determinanti di salute ossea perinatali

4.5.1.1 Latte materno

Soggetti ex-pretermine della corte erano stati allattati al seno significativamente meno rispetto ai nati a termine (20% vs 47%), mentre il 60% era stato allattato con formula esclusiva vs il 33%. Complessivamente i valori di BMD e BMC sia al rachide che al corpo intero risultavano maggiori nei soggetti allattati al seno presi in toto indipendentemente dalla prematurità, ma non il BMAD; altri studi hanno dimostrato un effetto positivo del latte materno sulla mineralizzazione ossea in bambini all'età di 5 anni (26) e anche in ex bambini pretermine seguiti in un *follow-up* fino all'età di 20 anni (44).

Pertanto, l'allattamento al seno sembrerebbe avere un importante ruolo protettivo sulla salute dell'osso, che si riflette anche nel bambino in età prepubere.

4.5.1.2 Età gestazionale

Nel nostro studio la prematurità non sembrava essere associata ad una riduzione dei parametri ossei misurati mediante DXA nella nostra coorte, né nei siti ossei a prevalenza corticale né in quelli a prevalenza trabecolare. Tuttavia, elemento interessante, l'età gestazionale si è osservato essere un predittore indipendente di circa il 4,8% dei parametri ossei WB misurati con DXA all'età scolare, sottolineando l'importanza dell'ultimo trimestre di gravidanza nella costituzione della massa ossea fetale per il futuro.

4.5.1.3 *Peso alla nascita*

Ancora più dell'età gestazionale, si è osservato che il peso alla nascita, espresso come variabile continua, era considerevolmente associato ai parametri ossei WB, sia nei nati a termine sia negli ex-pretermine. Tuttavia, e sorprendentemente, la classificazione del peso alla nascita non è risultato un fattore di rischio aggiuntivo per la futura massa ossea; infatti, non si sono rilevate differenze significative a livello della massa ossea tra bambini SGA e AGA, sia tra i pretermine sia tra i nati a termine. Questi risultati potrebbero, però, essere inficiati dal basso numero di bambini nati SGA arruolati nello studio. In contrasto con gli studi precedenti (58), lo scheletro assiale, composto principalmente da osso trabecolato, non era influenzato dal peso alla nascita o dall'età gestazionale. Ciò potrebbe essere correlato ad un meccanismo protettivo che viene messo in atto in caso di prematurità, che ha il fine di conservare il midollo osseo e il suo ambiente ricco di osso trabecolato. Infatti, è noto che i precursori ematopoietici e le cellule osteoprogenitrici condividono una cellula mesenchimale precursore comune.

4.5.1.4 *IUGR*

I nostri risultati riguardanti la compromissione globale dello scheletro (altezza, BMD e BMC) in soggetti con precedente IUGR, chiaramente mostravano l'impatto negativo di tale condizione sulla crescita scheletrica intrauterina, indipendentemente dall'età gestazionale. Correggendo tuttavia i parametri densitometrici per le dimensioni, utilizzando quindi altezza SDS e BMAD Z-score, rispettivamente, al WB e al L1-L4, non emergeva più alcuna differenza significativa, ad indicare una compromissione in particolare dimensionale dello scheletro di questi soggetti.

4.5.1.5 *Profilassi steroidea prenatale*

I bambini trattati con profilassi steroidea prenatale hanno mostrato dei parametri ossei misurati alla DXA significativamente più bassi rispetto ai bambini non trattati, sia a livello del WB (BMD Z-score), anche dopo correzione del BMC per altezza/massa magra, sia alla colonna (BMD Z-score e BMAD Z-score). Questo conferma l'ipotesi secondo la quale essi esplicherebbero un effetto catabolico interferendo con il processo di mineralizzazione ossea, che si può osservare anche a distanza di anni, soprattutto a carico dell'osso trabecolare.

4.5.2 Determinanti di salute ossea postnatale

4.5.2.1 *Fratture e Attività fisica*

Complessivamente i nostri soggetti non si differenziavano inoltre per eventi fratturativi (7%), né per l'attività fisica globalmente stimata attorno alle 2 ore a settimana. In analisi precedenti (57,59), le differenze di dimensioni ossee tra 34 bambini ex-pretermine all'età di 4 anni confrontati con 205 coetanei nati a termine erano stati spiegati da differenti livelli di attività fisica. Nell'analisi di Samra et al. (31), invece, i livelli di attività fisica simili nei due gruppi non erano in grado di spiegare le differenze riscontrate a livello osseo tra questi gruppi divisi per età gestazionale. È possibile che le differenze nei livelli di attività fisica tra bambini nati a termine e pretermine scompaiano man mano che il bambino cresce e inizia a fare gli stessi sport degli altri bambini.

4.5.2.2 *Parametri di composizione corporea*

La distribuzione di massa magra e massa grassa, entrambe influenzanti la mineralizzazione ossea secondo un meccanismo di carico, erano simili tra nati a termine e pretermine, anche se si è osservata una correlazione positiva tra età gestazionale, peso alla nascita e massa magra, sottolineando ancora una volta un “*imprinting*” determinato dalla nascita pretermine anche sulla composizione corporea; in complesso gli ex pretermine hanno meno massa magra e meno massa grassa, con una % di adiposità del 20% vs il 22% nei nati a termine.

4.5.2.3 *Analisi multiparametrica*

Tenendo conto dei determinanti ossei perinatali e di quelli valutati al momento dello studio abbiamo voluto valutare la predittività della BMD e della BMC al corpo intero, il sito scheletrico che aveva evidenziato lievi differenze come trend; focalizzando su fattori perinatali, predittore positivo è risultato l'allattamento al seno, mentre predittori negativo la trp steroidea antenatale e la condizione di IUGR, in particolare sulla BMD;

considerando anche fattori al momento dello studio e l'età gestazionale, quest'ultima è risultata stabilmente predittiva sia di BMC che di BMD, in associazione con parametri di composizione corporea, altezza e l'età allo studio. La trp steroidea risultava predittore negativo solo della BMAD nel modello perinatale, mentre nessun parametro è risultato predittore indipendente tenendo conto dei fattori post-natali.

In conclusione, si è osservato che bambini ex-pretermine all'età media di 7 anni non sembravano avere un aumentato rischio di sviluppare osteopenia in una fase successiva della vita, ma sono necessari ulteriori studi in particolare longitudinali.

4.6 CONCLUSIONI

Il nostro studio ha mostrato parametri di massa ossea simili in bambini nati a termine e pretermine durante il periodo prepubere; tuttavia, prendendo in considerazione noti fattori che influenzano la massa ossea prenatale e perinatale, età gestazionale, IUGR e profilassi steroidea si è osservato come questi fossero associati negativamente a surrogati densitometrici della salute dello scheletro anche diversi anni dopo la nascita; mentre il latte materno si è rivelato essere, all'opposto, un fattore protettivo.

5 BIBLIOGRAFIA

1. Wood CL, Wood AM, Harker C, Embleton ND. Bone mineral density and osteoporosis after preterm birth: The role of early life factors and nutrition. *International Journal of Endocrinology*. 2013;2013.
2. Breukhoven PE, Leunissen RWJ, de Kort SWK, Willemsen RH, Hokken-Koelega ACS. Preterm birth does not affect bone mineral density in young adults. *European Journal of Endocrinology*. 2011 Jan 1;164(1):133–8.
3. Tucker J, Mcguire W. ABC of preterm birth Epidemiology of preterm birth.
4. Hofman PL, Regan F, Jefferies CA, Cutfield WS. Prematurity and programming: are there later metabolic sequelae? *Metab Syndr Relat Disord*. 2006;4(2):101–12.
5. Farooqi A, Hagglrf B, Sedin G, Gothefors L, Serenius F. Growth in 10- to 12-Year-Old Children Born at 23 to 25 Weeks' Gestation in the 1990s: A Swedish National Prospective Follow-up Study. *Pediatrics*. 2006;118:e1452–65.
6. Sharp M. Bone disease of prematurity. *Early Hum Dev*. 2007 Oct;83(10):653–8.
7. The International Society for Clinical OFFICIAL POSITIONS [Internet]. Available from: www.iscd.org
8. di Iorgi N, Maruca K, Patti G, Mora S. Update on bone density measurements and their interpretation in children and adolescents. Vol. 32, *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. Bailliere Tindall Ltd; 2018. p. 477–98.
9. Cummings SR, Browner W, Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, et al. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. *The Lancet*. 1993 Jan;341(8837):72–5.
10. van der Sluis IM, de Ridder MAJ, Boot AM, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SMPF. Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults. *Archives of Disease in Childhood*. 2002 Oct;87(4):341–6.
11. Ribot C, Trémollières F, Pouilles J. Late consequences of a low peak bone mass. *Acta Paediatrica*. 1995 Sep;84(s411):31–5.
12. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ*. 1996 May 18;312(7041):1254–9.
13. Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, de Laet C, Delmas P, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res*. 2005 Jul;20(7):1185–94.
14. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner WS, Cauley JA, Genant HK, et al. Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *JAMA*. 1990 Feb 2;263(5):665–8.

15. Rustico SE, Calabria AC, Garber SJ. Metabolic bone disease of prematurity. Vol. 1, *Journal of Clinical and Translational Endocrinology*. Elsevier; 2014. p. 85–91.
16. Viswanathan S, Khasawneh W, McNelis K, Dykstra C, Amstadt R, Super DM, et al. Metabolic bone disease: a continued challenge in extremely low birth weight infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014 Nov;38(8):982–90.
17. Czech-Kowalska J, Czekuc-Kryskiewicz E, Pludowski P, Zaniuk K, Jaworski M, Uba A, et al. The clinical and biochemical predictors of bone mass in preterm infants. *PLoS ONE*. 2016 Nov 1;11(11).
18. Lothe A, Sinn J, Stone M. Metabolic bone disease of prematurity and secondary hyperparathyroidism. *Journal of Paediatrics and Child Health*. 2011 Aug;47(8):550–3.
19. Bishop NJ. Nutritional management of bone mineralization and metabolic bone disease. *Seminars in Neonatology*. 1996 Feb;1(1):11–8.
20. Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *Journal of Pediatrics*. 2014 Mar;164(3):499–504.
21. Weiss LW, Clark FC. Ultrasonic protocols for separately measuring subcutaneous fat and skeletal muscle thickness in the calf area. *Phys Ther*. 1985 Apr;65(4):477–81.
22. Pereira-da-Silva L, Veiga Gomes J, Clington A, Videira-Amaral JM, Bustamante SA. Upper arm measurements of healthy neonates comparing ultrasonography and anthropometric methods. *Early Hum Dev*. 1999 Mar;54(2):117–28.
23. Cooper DM, Ahmad I, Nemet D, Eliakim A, Koeppl R, Grochow D, et al. Body composition and its components in preterm and term newborns: A cross-sectional, multimodal investigation. *American Journal of Human Biology*. 2010;22(1):69–75.
24. Christmann V, van der Putten ME, Rodwell L, Steiner K, Gotthardt M, van Goudoever JB, et al. Effect of early nutritional intake on long-term growth and bone mineralization of former very low birth weight infants. *Bone*. 2018 Mar 1;108:89–97.
25. Fewtrell M, Prentice A, Cole T, Lucas A. Effects of growth during infancy and childhood on bone mineralization and turnover in preterm children aged 8-12 years. *Acta Paediatrica*. 2000 Feb 2;89(2):148–53.
26. Bishop N, Dahlenburg S, Fewtrell M, Morley R, Lucas A. Early diet of preterm infants and bone mineralization at age five years. *Acta Paediatrica*. 1996 Feb;85(2):230–6.
27. Ruys CA, van de Lagemaat M, Lafeber HN, Rotteveel J, Finken MJJ. Leptin and IGF-1 in relation to body composition and bone mineralization of preterm-born children from infancy to 8 years. *Clinical Endocrinology*. 2018 Jul 1;89(1):76–84.
28. Johnson M, Wootton S, Leaf A, Jackson A. Preterm Birth and Body Composition at Term Equivalent Age: A Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatrics*. 2012 Apr;130:e640-9.

29. Lageweg CMT, van der Putten ME, van Goudoever JB, Feuth T, Gotthardt M, van Heijst AFJ, et al. Evaluation of bone mineralization in former preterm born children: Phalangeal quantitative ultrasound cannot replace dual-energy X-ray absorptiometry. *Bone Reports*. 2018 Jun 1;8:38–45.
30. Bowden LS, Jones CJ, Ryan SW. Bone mineralisation in ex-preterm infants aged 8 years. *Eur J Pediatr*. 1999 Aug;158(8):658–61.
31. Abou Samra H, Stevens D, Binkley T, Specker B. Determinants of bone mass and size in 7-year-old former term, late-preterm, and preterm boys. *Osteoporos Int*. 2009 Nov;20(11):1903–10.
32. Balasuriya CND, Evensen KAI, Mosti MP, Brubakk AM, Jacobsen GW, Indredavik MS, et al. Peak Bone Mass and Bone Microarchitecture in Adults Born With Low Birth Weight Preterm or at Term: A Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(7):2491–500.
33. Balasuriya CND, Stunes AK, Mosti MP, Schei B, Indredavik MS, Hals IK, et al. Metabolic outcomes in adults born preterm with very low birthweight or small for gestational age at term: A cohort study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2018;103(12):4437–46.
34. Burrows R, Correa-Burrows P, Reyes M, Blanco E, Albala C, Gahagan S. Low muscle mass is associated with cardiometabolic risk regardless of nutritional status in adolescents: A cross-sectional study in a Chilean birth cohort. *Pediatr Diabetes*. 2017 Dec;18(8):895–902.
35. Xie LF, Alos N, Cloutier A, Béland C, Dubois J, Nuyt AM, et al. The long-term impact of very preterm birth on adult bone mineral density. *Bone Reports*. 2019 Jun 1;10.
36. Hovi P, Andersson S, Järvenpää AL, Eriksson JG, Strang-Karlsson S, Kajantie E, et al. Decreased Bone Mineral Density in Adults Born with Very Low Birth Weight: A Cohort Study. *PLoS Medicine*. 2009 Aug 25;6(8):e1000135.
37. Backström MC, Kuusela AL, Koivisto AM, Sievänen H. Bone structure and volumetric density in young adults born prematurely: A peripheral quantitative computed tomography study. *Bone*. 2005;36(4):688–93.
38. Dalziel SR, Fenwick S, Cundy T, Parag V, Beck TJ, Rodgers A, et al. Peak bone mass after exposure to antenatal betamethasone and prematurity: Follow-up of a randomized controlled trial. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2006 Aug;21(8):1175–86.
39. Yarbrough DE, Barrett-Connor E, Morton DJ. Birth weight as a predictor of adult bone mass in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *Osteoporos Int*. 2000;11(7):626–30.
40. Yarbrough DE, Barrett-Connor E, Morton DJ. Birth weight as a predictor of adult bone mass in postmenopausal women: the Rancho Bernardo Study. *Osteoporos Int*. 2000;11(7):626–30.
41. Antoniadou L. Association of birth weight with osteoporosis and osteoarthritis in adult twins. *Rheumatology*. 2003 Jun 1;42(6):791–6.

42. te Velde SJ, Twisk JWR, van Mechelen W, Kemper HCG. Birth weight and musculoskeletal health in 36-year-old men and women: Results from the Amsterdam Growth and Health Longitudinal Study. *Osteoporosis International*. 2004 May 18;15(5):382–8.
43. Jones G, Dwyer T. Birth Weight, Birth Length, and Bone Density in Prepubertal Children: Evidence for an Association That May Be Mediated by Genetic Factors. *Calcified Tissue International*. 2000 Oct 11;67(4):304–8.
44. Fewtrell MS, Williams JE, Singhal A, Murgatroyd PR, Fuller N, Lucas A. Early diet and peak bone mass: 20 year follow-up of a randomized trial of early diet in infants born preterm. *Bone*. 2009 Jul;45(1):142–9.
45. Breukhoven PE, Leunissen RWJ, de Kort SWK, Willemsen RH, Hokken-Koelega ACS. Preterm birth does not affect bone mineral density in young adults. *Eur J Endocrinol*. 2011 Jan;164(1):133–8.
46. Goldenberg RL, Culhane JF. Low birth weight in the United States. *Am J Clin Nutr*. 2007 Feb;85(2):584S-590S.
47. Chiavarini M, Minelli L. Maternal and Perinatal Health in Umbria region in 2012. *Annali di igiene : medicina preventiva e di comunita*. 27(3):580–9.
48. Bertino E, Giuliani F, Occhi L, Spada E, DeCurtis M, Coscia A, et al. Benchmarking neonatal anthropometric charts published in the last decade. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*. 2008 Sep 19;94(3):F233–F233.
49. Tanner JM, Whitehouse RH. Height and weight charts from birth to 5 years allowing for length of gestation. For use in infant welfare clinics. *Arch Dis Child*. 1973 Oct;48(10):786–9.
50. Cacciari E, Milani S, Balsamo A, Spada E, Bona G, Cavallo L, et al. Italian cross-sectional growth charts for height, weight and BMI (2 to 20 yr). *J Endocrinol Invest*. 29(7):581–93.
51. Crabtree NJ, Shaw NJ, Bishop NJ, Adams JE, Mughal MZ, Arundel P, et al. Amalgamated Reference Data for Size-Adjusted Bone Densitometry Measurements in 3598 Children and Young Adults-the ALPHABET Study. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2017 Jan;32(1):172–80.
52. Iannaccone G. W. W. Greulich and S. I. Pyle: Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. 2nd edition. I volume-atlante di 256 pagine. Stanford University Press, Stanford, California, 1959. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)*. 1959 Oct 1;8(4):513–513.
53. Gennai I, di Iorgi N, Reggiardo G, Gatti C, Bertelli E, Allegri AEM, et al. Age- and sex-matched reference curves for serum collagen type I C-telopeptides and bone alkaline phosphatase in children and adolescents: An alternative multivariate statistical analysis approach. *Clinical Biochemistry*. 2016 Jul;49(10–11):802–7.

54. Murthy V, O'Rourke A, Fox GF, Campbell ME, Milner A, Greenough A. End Tidal Carbon Dioxide Levels during the Resuscitation of Prematurely Born Infants. *Pediatric Research*. 2011 Nov;70:694–694.
55. Lucas A, Brooke OG, Baker BA, Bishop N, Morley R. High alkaline phosphatase activity and growth in preterm neonates. *Arch Dis Child*. 1989 Jul;64(7 Spec No):902–9.
56. Fewtrell MS, Cole TJ, Bishop NJ, Lucas A. Neonatal factors predicting childhood height in preterm infants: evidence for a persisting effect of early metabolic bone disease? *J Pediatr*. 2000 Nov;137(5):668–73.
57. Specker BL, Johannsen N, Binkley T, Finn K. Total Body Bone Mineral Content and Tibial Cortical Bone Measures in Preschool Children. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2001 Dec 1;16(12):2298–305.
58. Zamora SA, Belli DC, Rizzoli R, Slosman DO, Bonjour JP. Lower femoral neck bone mineral density in prepubertal former preterm girls. *Bone*. 2001 Nov;29(5):424–7.
59. Samra HA, Specker B. Walking Age Does Not Explain Term Versus Preterm Difference In Bone Geometry. *The Journal of Pediatrics*. 2007 Jul;151(1):61-66.e2.
60. Zamora SA, Rizzoli R, Belli DC, Slosman DO, Bonjour JP. Vitamin D Supplementation during Infancy Is Associated with Higher Bone Mineral Mass in Prepubertal Girls ¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999 Dec;84(12):4541–4.
61. Nutrition and feeding of preterm infants. Committee on Nutrition of the Preterm Infant, European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1987;336:1–14.
62. Carter DR, Bouxsein ML, Marcus R. New approaches for interpreting projected bone densitometry data. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2009 Dec 3;7(2):137–45.

Ringraziamenti

Dedico quest'ultima parte della mia tesi a tutte le persone che mi hanno accompagnato in questo percorso lungo, faticoso, ma incredibilmente affascinante.

Vorrei ringraziare innanzitutto la mia Relatrice, la Professoressa Natascia Di Iorgi, per la sua pazienza e il suo preziosissimo aiuto nella stesura di questo elaborato. La sua organizzazione, la sua preparazione e la sua passione per la Pediatria saranno per me sempre da esempio. Spero un domani di poter seguire le sue orme e diventare anch'io un medico pediatra competente e preparato come lei.

Ringrazio i miei genitori e la mia famiglia per aver sempre creduto in me ed essere sempre stati un importante punto di riferimento. Grazie per essermi sempre stati accanto in ogni sfida nonostante la distanza, grazie per le telefonate quotidiane, ormai diventate un rito, che mi hanno sempre trasmesso l'amore che solo un genitore può dare. Un grazie anche al mio fratellino Alessandro e alla mia sorellina Sofia, per ricordarmi ogni giorno quali sono le cose importanti della vita; sono e sarò sempre fiero di voi.

Un ringraziamento speciale va a Erica, mia grandissima amica e compagna di studi, con la quale ho superato tutte le sfide che questo percorso ci ha riservato. La ringrazio per essermi sempre stata accanto in tutti i momenti più difficili e impegnativi, per avermi aiutato a crescere, per le ore passate a parlare e a confrontarci, per essere stata sempre il mio principale punto di riferimento durante la vita universitaria.

Un grande ringraziamento va ad Alex mio coinquilino e futuro ingegnere di fiducia, sia per il suo immancabile supporto per un "negato per la tecnologia" quale sono io, sia, soprattutto, per la profonda amicizia che in così poco tempo si è venuta a creare, sei stato veramente la ciliegina sulla torta di questa mia esperienza universitaria.

Desidero inoltre ringraziare la Simo, Samu, Nic, Andre, Benny, il gruppo della Rose e tutti gli amici che hanno contribuito a rendere più leggeri e piacevoli questi anni impegnativi.

Infine, ci terrei a ringraziare, *tra tutte le persone che ho incontrato in questo cammino, tutti quei professionisti che, grazie all'amore per la propria professione, ogni giorno attraverso il loro operato non si limitano all'ordinarietà, ma che si adoperano per rendere il mondo un luogo migliore e fare in modo che "chi abita in quel luogo, non*

vive mai lo stesso giorno due volte, perché sa che è sempre possibile migliorare qualcosa” cit.