



Effetti dell'interazione tra sesso del neonato e variabili ostetriche sul rischio di sviluppo neurologico anomalo nei nati pre-termine

Anna Daniela Iacobone¹, Barbara Gardella¹, Marianna Roccio¹, Laura Montanari¹,
Mauro Stronati², Elisa Fazzi³, Arsenio Spinillo¹

¹Clinica Ostetrico-Ginecologica e ²Clinica di Neonatologia, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia, e ³Dipartimento di Scienze Neurologiche, Sezione di Neuropsichiatria Infantile, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Casimiro Mondino, Pavia, Italia

Effetti dell'interazione tra sesso del neonato e variabili ostetriche sul rischio di sviluppo neurologico anomalo nei nati pre-termine

Obiettivo: valutare gli effetti dell'interazione tra sesso del neonato e variabili ostetriche sul rischio di sviluppo neurologico anomalo nei nati pre-termine.

Materiali e metodi: uno studio di coorte di 394 neonati maschi e 360 neonati femmine nati vivi tra la 24esima e 33esima settimana completa di epoca gestazionale. L'esame neurologico e la valutazione cognitiva (*Bayley Scales of Infant Development*) sono state eseguite a 2 anni di vita.

Risultati: l'epoca gestazionale media è di 30.4 settimane (SD 2.4). Anomalie dello sviluppo neurologico medie e moderate-severe hanno tassi rispettivamente di 14.6% (110/754) e 7% (53/754). Nelle analisi logistiche, il sesso maschile è associato ad un incrementato rischio di anomalie dello sviluppo neurologico (*odds ratio* di 1.8, 95% intervallo di confidenza 1.21-2.68) paragonato al sesso femminile. L'eccessivo rischio di anomalie dello sviluppo neurologico tra i neonati di sesso maschile è maggiore nelle gravidanze pre-eclamptiche che nelle normotese (*p for interaction*=0.001) e nei parti indotti più che nei parti pre-termine o nei casi di rottura prematura delle membrane (*p for interaction*=0.035).

Conclusioni: l'eccessivo rischio di anomalie dello sviluppo neurologico nei neonati di sesso maschile nati pre-termine è modulato da fattori ostetrici.

Effects of the interaction between fetal sex and obstetric variables on the risk of neurodevelopmental impairment among preterm infants

Aim: to evaluate the effect of the interaction between fetal sex and obstetric variables on the risk of neurodevelopmental impairment among preterm infants.

Method: a cohort study of 394 male and 360 female surviving infants born at 24 to 33 completed weeks of gestational age. Neurological examination and cognitive assessment of the infants (*Bayley Scales of Infant Development*) were performed at 2 years corrected age.

Results: mean gestational age was 30.4 weeks (SD 2.4). Rates of mild and moderate-to-severe neurodevelopmental impairment were 14.6% (110/754) and 7% (53/754) respectively. In logistic analysis, male sex was asso-

ciated with an increased risk of neurodevelopmental impairment (odds ratio 1.8, 95% confidence interval 1.21-2.68) compared with females. The excess risk of neurodevelopmental impairment associated with male sex was higher among preeclamptic than normotensive pregnancies (p for interaction=0.004), among infants who were either small for gestational age or delivered to a mother with preeclampsia (p for interaction=0.001) and in iatrogenic as opposed to spontaneous preterm birth or preterm premature rupture of membranes (p for interaction=0.035).

Interpretation: the excess risk of neurodevelopmental impairment associated with male sex among preterm infants is modulated by obstetric risk factors.

Introduzione

Studi riguardanti i nati pretermine hanno dimostrato che la mortalità neonatale, la morbilità a breve termine e gli *outcome* neurologici sfavorevoli sono più frequenti tra i maschi che nelle femmine [1-3]. I motivi dell'associazione tra sesso fetale e *outcome* neurologico non sono ancora ben delineati. Tra gli adulti, il sesso maschile è un fattore di rischio ben definito per ictus clinicamente manifesto, e le differenze di sesso negli eventi di danno cerebrale sono stati tradizionalmente attribuiti all'effetto protettivo degli estrogeni [4]. Questo meccanismo non è probabilmente rilevante tra i bambini pretermine [5]. Svartati autori hanno ipotizzato un'elevata suscettibilità dei maschi nati pretermine a fattori di rischio ostetrici o neonatali per spiegare il loro aumentato rischio di *outcome* neurologico anomalo. Un grande studio su bambini con paralisi cerebrale (CP) suggerisce che il rischio di CP associato al sesso maschile aumenta in proporzione alla gravità della restrizione di crescita fetale [6]. Hintz et al. ha esaminato un grande *database* di bambini nati pretermine e ha trovato che diverse variabili neonatali, come sepsi, displasia broncopolmonare, e steroidi postnatali, modificano il rischio maschile di *outcome* neurologico sfavorevole [3]. D'altro canto, studi precedenti non avevano analizzato l'impatto delle interazioni tra fattori di rischio prenatale e sesso del bambino sul conseguente *outcome* neurologico [1, 3, 5].

Scopo del lavoro

Lo scopo del nostro studio è di valutare il rischio di *outcome* neurologico anomalo tra i nati pretermine in base al sesso del bambino e di studiare le interazioni tra rischio associato al sesso e categorie di fattori di rischio ostetrico.

Materiali e metodi

Lo studio era basato su informazioni contenute in un *database* dedicato, includente dati ostetrici e dati dei bambini raccolti da una coorte di nati pretermine (tra la 24ma e la 33ma settimana di gestazione) nella Clinica di Ostetricia e Ginecologia, Policlinico San Matteo, Pavia, Italia, tra il 1990 e 2004. Lo studio era stato approvato dal Comitato Etico dell'ospedale e le pazienti avevano dato il loro consenso informato.

I dati riguardanti le variabili materne, sociali e cliniche erano state raccolte alla nascita e immesse nel *database*, mentre le informazioni riguardanti le variabili neonatali erano state raccolte alla dimissione dall'ospedale. La classe sociale materna in gravidanza era stata suddivisa in 5 categorie, in base all'occupazione della madre e del partner. Il dato riguardante il numero di sigarette fumate al giorno si riferisce alle abitudini tabagistiche dopo il primo trimestre di gravidanza. L'età gestazionale è stata confermata dall'ecografia del primo trimestre o, in meno del 6% dei casi, dalla combinazione tra dati

ecografici successivi e l'esame neonatale alla nascita. La preeclampsia era stata diagnosticata secondo i criteri standard [7]. I bambini SGA (*Small for Gestational Age*) erano stati definiti come bambini con peso alla nascita al di sotto del 10mo centile delle curve di riferimento nazionali, corretto per il sesso e l'età gestazionale [8]. Per valutare la gravità della restrizione di crescita, è stato anche calcolato il rapporto del peso alla nascita per ogni bambino e ad ogni epoca gestazionale. Il rapporto del peso alla nascita è il rapporto tra il peso osservato e quello atteso, dove il peso atteso equivale al 50mo centile del peso alla nascita della popolazione italiana corretta per il sesso del bambino. I tracciati cardiocografici non rassicuranti prima e dopo il parto sono stati definiti mediante i criteri di McDonald *et al.* [9]. Durante lo studio, la ritodrina è stata l'unico farmaco tocolitico somministrato; i farmaci antipertensivi utilizzati nella preeclampsia sono stati metil-dopa, idralazina, e nifedipina. Betametasona e desametasone (12 mg, due dosi a distanza di 24 ore) era il trattamento prenatale standard per l'imaturità polmonare fino al 1999; da quel momento in poi, il betametasona è stato l'unico steroide utilizzato. Il trattamento con surfactante alla nascita è stato reso disponibile di *routine* dal 1991.

La diagnosi clinica di corioamnionite era basata sulla presenza di temperatura corporea materna $>38^{\circ}\text{C}$, maggior resistenza dell'addome, liquido amniotico maleodorante, e tachicardia fetale. La categoria di nascita pretermine iatrogena o per ragioni mediche includeva parti indotti a causa di emorragie del terzo trimestre, restrizione di crescita fetale, preeclampsia, o altre malattie materne (diabete, problemi nefrologici e cardiovascolari), peggiorate durante la gravidanza.

Dopo il parto tutti i neonati sono stati ricoverati nell'unità di terapia intensiva neonatale. Un'ecografia dell'encefalo è stata eseguita entro 24 ore dal ricovero in tutti i bambini. Successivamente, ecografie cerebrali seriate sono state effettuate ogni 48-72 ore durante le prime due settimane di vita e poi una volta alla settimana fino alla dimissione. L'emorragia intracranica del bambino è stata suddivisa in 4 gradi, secondo Papile *et al.* [10]. I bambini con leucomalacia cistica periventricolare includevano quelli con reperti ultrasonografici di franca degenerazione cistica della materia bianca periventricolare.

Lo sviluppo neurologico dei bambini è stato valutato da un neuropsichiatra infantile, che non aveva avuto nessun ruolo nelle terapie intensive dei bambini e che era all'oscuro della storia materna. Le visite sono state effettuate al momento della dimissione dall'ospedale e a 3, 6, 12 e 24 mesi dell'età corretta. La valutazione neurologica dei neonati era basata sui metodi di Amiel-Tison e Grennier [11]. La seconda edizione della *Bayley Scales of Infant Development* è stata utilizzata per valutare lo sviluppo cognitivo (*Mental Developmental Index*, MDI) dai 12 ai 24 mesi [12].

I bambini sono stati raggruppati in tre categorie in base alla loro valutazione al 24mo mese di età corretta: (1) sani – condizioni neurologiche normali e Bayley MDI >84 ; (2) danno lieve – anomalie nel tono muscolare e nei riflessi, ma Bayley funzionalmente normale o borderline MDI 71-84; (3) danno moderato-severo – diplegia spastica o emiplegia con Bayley MDI ≥ 71 , o tetraplegia spastica e/o ritardo mentale Bayley MDI <71 . Questa classificazione è simile a quella proposta da de Vries *et al.* [13].

I dati sono stati analizzati mediante un'analisi della varianza unidirezionale o mediante il test del chi-quadrato per confrontare rispettivamente variabili continue e categoriche. Il test del chi-quadrato è stato usato per stimare il *trend* lineare tra le categorie ordinate. Associazioni univariate tra variabili ostetriche e *outcome* neurologico del bambino sono state valutate mediante il calcolo dell'*odds ratio* (OR) e del 95% dell'intervallo di confidenza (CI). Le analisi di regressione logistica binarie e multinomiali a *step* sono state utilizzate per esplorare le associazioni di variabili materne (età materna, educazione, classe sociale, nulliparità, fumo in gravidanza) e variabili ostetriche (epoca gestazionale, peso alla nascita, proporzione del peso alla nascita atteso, preeclampsia, *abruptio placentae*, placenta previa, sesso del bambino, uso prenatale di steroidi, PPRM, travaglio di parto spontaneo a membrane intatte, frequenza cardiaca fetale non rassicurante, uso di tocolitici, corioamnioniti, taglio cesareo, pH dell'arteria ombelicale ≤ 7.2 , SGA) e *outcome* neurologico infantile. La probabilità di introduzione o rimozione a *step* delle variabili dal modello è stata fissata a $p=0.05$.

L'anno di nascita è stato introdotto forzatamente come un fattore confondente in tutti i modelli finali a *step*. Nella regressione binaria l'*outcome* neurologico è stato suddiviso in sano e non sano, mentre nelle equazioni multinomiali è stato introdotto come una variabile categorica a tre livelli (sano, danno lieve, danno moderato-grave). È stata utilizzata la tecnica statistica di *bootstrap* per validare i modelli finali e per calcolare i 95% del CI e i *p-value* dei parametri.

I modelli logistici binari sono stati anche utilizzati per identificare l'effetto sull'*outcome* neurologico del bambino risultante dall'interazione tra variabili ostetriche di esposizione e il sesso del bambino. Al fine di studiare questa relazione, nelle equazioni di regressione logistica è stato introdotto un termine di interazione di primo ordine tra il sesso fetale e le variabili ostetriche (preeclampsia, SGA) codificati come termini binari. I coefficienti corrispondenti, includenti il termine di interazione, sono stati poi corretti per l'effetto dei confondenti [14]. Un test di interazione era da considerarsi statisticamente significativo ($p \leq 0.1$) se la sua introduzione migliorava la forma del modello basato sul test di probabilità del rapporto.

Risultati

Durante il periodo dello studio, 809/1010 (80.1%) bambini singoli, nati nella nostra clinica tra la 24ma e le 33ma settimana di gestazione, sono stati dimessi vivi. Diciassette (2.1%) bambini sono stati esclusi dallo studio per gravi malformazioni e 38 (4.7%) sono stati persi al *follow-up*. Questi ultimi sono stati valutati neurologicamente sani al momento della dimissione o alla prima valutazione neurologica dopo la dimissione. Un totale di 754 bambini sono stati, quindi, inseriti nel *follow-up* come popolazione di studio. L'epoca gestazionale è stata confermata mediante l'ecografia del primo trimestre in 712 (94.4%) donne. Complessivamente, l'età gestazionale e il peso alla nascita dell'intera coorte erano rispettivamente di 30.4 settimane (SD 2.4) e 1441 g (SD 465). Le principali informazioni demografiche stratificate per sesso del bambino sono riportate nella tabella 1. Maschi e femmine non differivano in termini di epoca gestazionale, peso alla nascita, proporzione del peso atteso alla nascita, educazione materna o classe sociale.

Nell'insieme, le frequenze di danno neurologico lieve e moderato-severo a 2 anni di *follow-up* corretto per l'età erano rispettivamente 14.6% (110/754) e 7% (53/754). Le frequenze delle principali complicanze della gravidanza e del parto erano indipendenti dal sesso dei bambini (Tabella 2). Il danno cerebrale grave, come dimostrato sia dal grado 3-4 di emorragia intraventricolare, sia dalla leucomalacia cistica periventricolare, è stato diagnosticato nel 7.1% (21/360) delle bambine (OR 1.23; 95% CI 0.69-2.21). La probabilità netta di danno neurologico generalizzato era significativamente più elevata nei maschi (OR 1.71; 95% CI 1.2-2.44) che nelle femmine. L'aumentato rischio di *outcome* neurologico sfavorevole associato ai maschi confrontato con il sesso femminile era statisticamente significativo tra i bambini con ecografia cerebrale normale (54/328 vs 28/303; OR 1.93; 95% CI 1.16-3.27) ma non tra quelli con ecografia anomala (48/66 vs 33/57; OR 1.94; 95% CI 0.85-4.43); tuttavia, questa differenza non era statisticamente significativa (*p for interaction*=0.99).

La tabella 3 mostra la netta associazione tra le variabili ostetriche di esposizione e l'*outcome* neurologico dei bambini. L'epoca gestazionale e il peso alla nascita erano più elevati tra i bambini sani che nei bambini sia con danno lieve, sia moderato a livello cerebrale. Le frequenze decrescenti di preeclampsia (*p for trend*=0.004) e di esposizione prenatale agli steroidi (*p for trend*=0.021) erano associate ad un aumento della gravità del danno neurologico. Le frequenze in aumento del pH dell'arteria ombelicale ≤ 7.2 alla nascita erano associate in modo direttamente proporzionale alla gravità del danno neurologico (*p for trend*=0.001).

I risultati dell'analisi di regressione a *step*, comprendenti modelli logistici multinomiali e binari, sono mostrati in tabella 4. I fattori predittivi indipendenti di danno neurologico identificati attraverso l'analisi di regressione multinomiale e binaria erano simili. Nei modelli finali, l'epoca gestazionale in

aumento e la proporzione del peso atteso alla nascita, l'utilizzo prenatale di steroidi e il sesso femminile erano fattori protettivi significativi per danno neurologico lieve, moderato-severo e generalizzato. Un pH nell'arteria ombelicale ≤ 7.2 alla nascita era associato ad un aumentato rischio di danno neurologico lieve e moderato-severo. D'altro canto, la preeclampsia era associata ad un ridotto rischio generalizzato di disabilità infantile. Il taglio cesareo, che era associato ad un ridotto rischio di danno neurologico all'analisi univariata, manca di rilevanza statistica significativa per essere incluso nei modelli finali a *step*. Le interazioni di primo ordine tra il sesso del bambino e le variabili ostetriche di esposizione sono inserite in modelli logistici binari includenti l'anno di nascita, l'epoca gestazionale, la proporzione del peso atteso alla nascita (variabili continue), l'uso prenatale di steroidi, la preeclampsia, e il pH dell'arteria ombelicale ≤ 7.2 (variabili binarie), in qualità di fattori confondenti. I risultati di questa analisi sono riportati nella tabella 5. Il rischio delle disabilità neurologiche del bambino associate al sesso maschile era eterogeneo tra le categorie delle variabili ostetriche. Il rischio di *outcome* neurologico anomalo del bambino associato al sesso maschile era più alto nelle gravidanze con preeclampsia rispetto alle normotese ($\beta=1.62$ SD 0.56, *p for interaction*=0.004), tra i bambini SGA o nati da madri con preeclampsia ($\beta=1.5$ SD 0.45, *p for interaction*=0.001) o nati pretermine per parto indotto a causa di condizioni mediche rispetto a nati pretermine spontanei o PPRM ($\beta=0.82$ SD 0.39, *p for interaction*=0.035).

Discussione

I risultati di questo studio confermano che nelle gravidanze pretermine singole, il sesso maschile è associato ad un aumentato rischio di danno neurologico a 2 anni di *follow-up*. Il rischio di sviluppo neurologico anomalo era significativamente eterogeneo tra le categorie di rischio ostetrico. In particolare, il rischio di danno neurologico associato al sesso maschile era più alto (1) tra le gravidanze preeclamptiche rispetto alle normotese, (2) nel parto pretermine iatrogeno rispetto al parto pretermine spontaneo o PPRM, e (3) nei bambini SGA rispetto ai bambini con appropriata crescita intrauterina. Poiché l'effetto dell'interazione tra variabili neonatali e sesso del bambino sull'*outcome* neurologico infantile è già stato analizzato da altri autori [1, 3], noi limitiamo la nostra analisi solo alle variabili prenatali e del parto.

Abbiamo usato un metodo *a step* per selezionare le variabili significativamente associate all'*outcome* neurologico. Siccome questo approccio tende a sovrastimare i parametri di regressione, il suo utilizzo nel costruire modelli predittivi di analisi decisionale è stato criticato [16]. Tuttavia, secondo altri autori, la selezione a *step* delle variabili è un metodo di *screening* utile quando le covarianti e l'associazione con l'*outcome* non sono ben definite [14]. *K-fold cross-validation* e *bootstrapping* sono stati proposti come metodi di ricampionamento per validare i modelli ottenuti con la regressione logistica a *step* [17]. I metodi di *cross-validazione* sono basati su continue verifiche dell'accuratezza predittiva del modello su piccoli sottocampioni di dati. Questa procedura fornisce stime affidabili di errore predittivo ma richiede assunti distribuzionali restrittivi e mostra un'elevata variabilità. I metodi di *bootstrap* valutano l'errore predittivo attraverso l'uso iterativo di ricampionamenti informatici di gruppi di dati osservati, con sostituzione. Questo metodo è utile per ottenere errori standard affidabili di *odds ratio* e non richiede né assunti di normalità né un ampio campione [17].

I potenziali *bias* dello studio possono derivare sia dal tipo di popolazione analizzata, che dai metodi utilizzati. Non è possibile generalizzare i risultati ottenuti da una coorte di bambini di un singolo centro all'intera popolazione di bambini pretermine, per la presenza di *bias* di selezione risultanti da cause geografiche, criteri diagnostici e modalità terapeutiche. Poiché la nostra Clinica di Ostetricia e Ginecologia è l'unico centro perinatale di terzo livello rivolto ad una popolazione di circa 530000 persone, un *bias* di selezione geografica sembra improbabile. I criteri diagnostici utilizzati per identificare la pree-

clampsia, le modalità di sorveglianza, e i farmaci usati per il trattamento della preeclampsia o per il parto pretermine durante il periodo dello studio erano quelli raccomandati dalla letteratura internazionale. Per raggiungere una forza statistica sufficiente nell'analisi dell'interazione tra sesso del bambino e variabili di esposizione, abbiamo combinato il danno neurologico lieve con quello moderato-severo. Secondo un recente *report* sulla definizione e classificazione delle CP, solo bambini con danno neurologico moderato-severo, come definito dal nostro studio, dovrebbero essere inclusi tra i bambini con vera CP [18]. D'altro canto, alterazioni motorie lievi, che non interferiscono con le attività quotidiane, o un indice di sviluppo mentale *borderline* non soddisfacente la definizione di CP, potrebbero avere significative conseguenze nell'adolescenza o, più tardivamente, nella vita adulta [19].

Nell'analisi di regressione logistica multinomiale e binaria del nostro studio, i danni neurologici lievi e moderato-severi erano associati con fattori di rischio ostetrico simili. Secondo i suggerimenti di esperti in neuroepidemiologia, sottogruppi di *outcome* neurologici con profili di rischio simili possono essere combinati per ottenere stime di rischio più precise [20]. Infine, siccome i modelli logistici riconoscono solo interazioni moltiplicative, noi potremmo non aver identificato ulteriori associazioni tra il sesso del bambino e le variabili ostetriche di esposizione.

I risultati di un'ampia gamma di dati europei suggeriscono che il sesso maschile dei bambini è associato ad un aumento del rischio di CP dal 30% al 60%, confrontato con quello delle femmine [1-3]. Tale rischio sembra essere ulteriormente aumentato dal parto pretermine e da un'alterata crescita fetale. In particolare, Jarvis *et al.* scoprirono che il rischio di CP severo era di 16 e di 10 volte più alto rispettivamente tra maschi e femmine con un peso alla nascita sotto il 3° centile, comparato con il rischio di quei bambini che alla nascita avevano un peso compreso tra il 75° e 90° centile [6]. Le ricerche erano state fatte su molti partecipanti con CP, ma mancava un gruppo di confronto di bambini sani [6]. Il nostro studio di coorte conferma che il rischio di anomalie nello sviluppo neurologico associato con il sesso maschile del bambino è più alto tra gli SGA rispetto ai bambini con appropriata crescita intrauterina. Nel nostro studio, la preeclampsia era associata a ridotti rischi di danno moderato-severo e di anomalo sviluppo neurologico complessivo a 2 anni di *follow-up*, confrontato con i rischi in bambini di controllo nati da madri normotese. Questo risultato dovrebbe essere interpretato con cautela, perché il gruppo di donne normotese include principalmente pazienti con parto pretermine e PPRM. Recenti studi europei hanno dimostrato che le percentuali di danno cerebrale e di *outcome* neurologico sfavorevole a 2 anni sono significativamente più basse nei bambini nati da madri ipertese rispetto ai bambini nati da parto spontaneo pretermine o PPRM [21-22]. Questo effetto può essere attribuito alle conseguenze negative sull'*outcome* neonatale di infezioni ed infiammazioni associate a parto pretermine spontaneo e PPRM, piuttosto che ad un effetto protettivo della preeclampsia. Tuttavia, secondo i nostri dati, questo effetto protettivo della preeclampsia era significativamente più basso tra i maschi che tra le femmine. La scoperta che preeclampsia, SGA, e nascita pretermine iatrogena aumenti il rischio maschile di *outcome* neurologico sfavorevole suggerisce un'aumentata vulnerabilità dei feti maschi ad eventi avversi intrauterini come difetti di placentazione ed alterata crescita.

Contrariamente a quanto scoperto da Tioseco *et al.* [23], noi non abbiamo trovato un'associazione tra sesso maschile ed emorragia intracranica; infatti, l'analisi logistica suggeriva che l'effetto maschio sull'*outcome* neurologico era indipendente dai risultati dell'ecografia cerebrale. Sebbene le anomalie ecografiche cerebrali nei bambini pretermine siano dei forti predittori di *outcome* neurologico sfavorevole, un'ecografia normale non garantisce un *outcome* normale. In un ampio studio multicentrico su bambini estremamente pretermine, Hintz *et al.* hanno dimostrato che il cosiddetto svantaggio maschile nell'*outcome* neurologico persiste sia nel danno neurologico lieve, sia in quello moderato-severo, ed è indipendente dalla presenza di severe emorragie intracraniche o leucomalacia cistica [3]. I nostri dati confermano che i feti maschi pretermine hanno un rischio innato di *outcome* neurologico avverso più elevato rispetto ai feti femmine, ma questa suscettibilità varia tra le diverse categorie di fattori di ri-

schio ostetrico. Da un punto di vista biologico, le differenze negli *outcome* neurologici associati al sesso del bambino sono scarsamente definite. I dati clinici e di *imaging* nei bambini nati pretermine suggeriscono che la risposta del cervello prematuro agli insulti ipossici è modulata dal sesso [24-25]. In più, la risposta infiammatoria alle infezioni intrauterine, valutata come concentrazione di citochine nel liquido amniotico e nelle urine, è influenzata dal sesso fetale [26]. Studi condotti su animali hanno mostrato che le modalità di morte delle cellule nervose indotte da ipossia-ischemia, e le risposte allo stress ossidativo e all'infiammazione sistemica indotta da endotossine, sono modulate dal sesso [5, 27]. Quindi non deve sorprendere che le risposte di feti umani a fattori di rischio ostetrico, che sono *markers* surrogati di ipossia, anomalie di crescita, infezione/infiammazione intrauterina, siano influenzate dal sesso. Qualunque sia il substrato biologico, la scoperta di un'associazione tra sesso del bambino ed *outcome* neurologico nei bambini pretermine dovrebbe essere presa in considerazione non solo negli studi di patogenesi delle CP, ma anche nella valutazione di potenziali strategie preventive.

Tabelle e figure

Tabella 1. Variabili demografiche in gravidanza in 754 bambini pretermine.

Variabili	Femmine (n=360)	Maschi (n=394)	p value*
	Media (SD), n (%)	Media (SD), n (%)	
Età materna, anni	30.4 (5.4)	30.8 (5.6)	0.2
Epoca gestazionale, settimane	30.4 (2.4)	30.3 (2.4)	0.43
Peso alla nascita, grammi	1422 (501)	1459 (456)	0.3
Proporzione del peso atteso	0.897 (0.2)	0.904 (0.2)	0.67
Incremento del peso in gravidanza, kg/sett	0.30 (0.1)	0.30 (0.1)	0.65
Educazione materna			0.66
<5 anni	25 (7)	34 (8.6)	
6-8 anni	122 (34)	123 (31.2)	
9-13 anni	168 (46.7)	193 (49)	
13 anni	45 (12.5)	44 (11.2)	
Classe sociale			0.7
I-II (manageriale,intermedia)	50 (14)	55 (14)	
III (ufficio, non manuale)	157 (43.6)	183 (46.4)	
IV-V (manuale, con abilità specifiche e non)	153 (42.5)	156 (39.6)	
Precedente termine di gravidanza			0.99
0	230 (64.5)	254 (64.5)	
1	106 (29.5)	114 (28.9)	
2	24 (6.7)	26 (6.6)	
Precedente basso peso alla nascita	32 (8.9)	31 (7.9)	0.61
Tabagismo in gravidanza			0.89
No	281 (78.1)	312 (79.2)	
<10 sig/die	63 (17.5)	67 (17)	
>10sig/die	16 (4.4)	15 (3.8)	
Abbreviazioni: *come ottenuto dall'analisi one-way di varianza o test del chi-quadrato			

Tabella 2. Variabili ostetriche e outcome neurologico a 2 anni in 754 bambini pretermine.

Variabili	Femmine (n=360)	Maschi (n=394)	p value*
	n (%)	n (%)	
<i>Preeclampsia</i>	89 (24.7)	96 (24.3)	0.05
<i>Abruption</i>	29 (8)	35 (8.9)	0.39
<i>Placenta previa</i>	14 (3.9)	18 (4.6)	0.39
<i>Uso prenatale di steroidi</i>	256 (71.1)	284 (72.1)	0.42
<i>Tocolitici</i>	153 (42.5)	163 (41.4)	0.41
<i>PPROM</i>	90 (25)	102 (25.9)	0.42
<i>Travaglio spontaneo (membrane intatte)</i>	99 (27.5)	103 (26.1)	0.37
<i>Corioamnioniti</i>	26 (7.2)	34 (8.6)	0.56
<i>Taglio cesareo</i>	240 (66.7)	289 (73.4)	0.03
<i>BCF non rassicurante</i>	50 (13.9)	49 (12.4)	0.31
<i>pH dell'arteria ombelicale <7.2</i>	69 (19.2)	79 (20)	0.42
<i>Bambini SGA</i>	51 (14.2)	72 (18.3)	0.08
<i>Parto su indicazione medica</i>	171 (47.5)	189 (48)	0.48
<i>Outcome neonatale</i>			
Emorragia intracranica			
No	309 (85.8)	332 (84.3)	0.08
Grado I-II	39 (10.8)	47 (11.9)	
Grado III-IV	12 (3.3)	15 (3.8)	
Leucomalacia cistica periventricolare	9 (2.5)	19 (4.8)	0.09
<i>Outcome neurologico</i>			
Normale	299 (83.1)	292 (74.1)	0.012
Danno lieve	41 (11.4)	69 (17.5)	
Danno moderato-severo	20 (5.6)	33 (8.4)	
Danno generalizzato	61 (16.9)	102 (25.9)	
Abbreviazioni: *come ottenuto dal test chi-quadrato. PPRM, rottura pretermine prematura delle membrane.			

Tabella 3. Variabili ostetriche in base all'outcome neurologico dei bambini a 2 anni di età corretta.

Variabili	No danno (n=591)	Lieve (n=110)	Moderato- severo (n=53)	p value*
	Media (SD), n (%)	Media (SD), n (%)	Media (SD), n (%)	
Epoca gestazionale, settimane	30.6 (2.3)**	29.8 (2.6)	28.6 (2.8)	<0.001
Peso alla nascita, grammi	1494 (474)**	1298 (431)	1152 (455)	<0.001
Proporzione del peso atteso alla nascita	0.908 (0.2)	0.868 (0.2)	0.889 (0.2)	0.33
Preeclampsia	156 (26.4)	25 (22.7)	4 (7.5)	0.008
PPROM	152 (25.7)	26 (23.6)	14 (12.7)	0.89
Corioamnioniti	47 (8)	7 (6.4)	6 (11.3)	0.54
Abruptio	49 (8.3)	9 (8.2)	6 (5.4)	0.74
Placenta previa	26 (4.5)	2 (1.8)	4 (3.6)	0.22
Parto su indicazione medica	289 (48.9)	53 (48.2)	18 (33.9)	0.11
Uso prenatale di steroidi	435 (73.6)	72 (65.5)	33 (30)	0.06
Tocolitici	239 (40.4)	49 (44.5)	28 (52.8)	0.18
Travaglio spontaneo (membrane intatte)	150 (25.4)	31 (28.2)	21 (39.6)	0.076
Taglio cesareo	428 (72.4)	70 (63.6)	31 (58.5)	0.028
BCF non rassicurante	75 (12.7)	17 (15.4)	7 (13.2)	0.73
pH dell'arteria ombelicale <7.2	101 (17.1)	31 (28.2)	16 (30.2)	0.004
Bambino SGA	66 (11.2)	18 (16.4)	4 (7.5)	0.29

Abbreviazioni: *come ottenuto dall'analisi one-way di varianza o test del chi-quadrato.
 **p<0.05 confrontato con bambini con lieve o moderato-severo sviluppo neurologico anomalo come ottenuto dall'analisi one-way di varianza e test di Bonferroni post-hoc.
 PPRM = rottura pretermine prematura delle membrane.

Tabella 4. Odds Ratio (OR), 95% dell'intervallo di confidenza (CI) e p value del danno neurologico lieve, moderato-grave, generalizzato come ottenuto dalla regressione logistica a step a bootstrapping.

Danno	Variabili	OR (95% CI)	p value*
Lieve	Epoca gestazionale	0.84 (0.77-0.91)	<0.001
	Proporzione del peso atteso alla nascita	0.29 (0.11-0.75)	0.007
	Sesso maschile	1.79 (1.16-2.75)	0.009
	pH dell'arteria ombelicale <7.2	1.77 (1.08-2.87)	0.02
	Uso prenatale di steroidi	0.57 (0.36-0.91)	0.018
Moderato-Severo	Epoca gestazionale	0.69 (0.61-0.89)	<0.001
	Proporzione del peso atteso alla nascita	0.20 (0.06-0.68)	0.009
	Sesso maschile	1.86 (1.0-3.52)	0.05
	pH dell'arteria ombelicale <7.2	1.71 (0.80-3.62)	0.16
	Uso prenatale di steroidi	0.44 (0.23-0.85)	0.015
Generalizzato**	Epoca gestazionale	0.79 (0.73-0.86)	<0.001
	Proporzione del peso atteso alla nascita	0.18 (0.07-0.45)	0.001
	Sesso maschile	1.8 (1.21-2.68)	0.004
	pH dell'arteria ombelicale <7.2	1.75 (1.15-2.64)	0.008
	Uso prenatale di steroidi	0.54 (0.36-0.80)	0.003
	Preeclampsia	0.52 (0.32-0.85)	0.008

Abbreviazioni: *come ottenuto dalla regressione logistica multinomiale a step includente variabili ostetriche e demografiche.
 **come ottenuto dalla regressione logistica binaria includendo le suddette variabili e le variabili di outcome.

Tabella 5. Odds Ratio (OR), 95% dell'intervallo di confidenza (CI) del danno neurologico associato al sesso maschile stratificato con i fattori di rischio ostetrico.

Variabili	No danno n=591	Danno n=163	OR (95% CI)	p value*
	n (%)	n(%)		
Preeclampsia				
<i>Si (n=185)</i>				
Femmine	84 (14.2)	5 (3.1)	<i>Reference</i>	
Maschi	72 (12.2)	24 (14.7)	5.6 (2.0-15.4)	
<i>No (n=569)</i>				
Femmine	215 (36.4)	56 (34.4)	<i>Reference</i>	
Maschi	220 (37.2)	78 (47.8)	1.4 (0.92-2.01)	0.004
SGA				
<i>Si (n=123)</i>				
Femmine	43 (7.3)	8 (4.99)	<i>Reference</i>	
Maschi	46 (7.8)	26 (16)	3.0 (1.24-7.43)	
<i>No (n=631)</i>				
Femmine	256 (43.3)	53 (32.5)	<i>Reference</i>	
Maschi	246 (41.6)	76 (46.6)	1.5 (1.0-2.2)	0.06
Preeclampsia o SGA				
<i>Si (n=246)</i>				
Femmine	102 (17.3)	11 (6.7)	<i>Reference</i>	
Maschi	93 (15.7)	40 (24.5)	4.0 (1.93-8.22)	
<i>No (n=508)</i>				
Femmine	197 (33.3)	50 (30.7)	<i>Reference</i>	
Maschi	199 (33.7)	62 (38)	1.23 (0.8-1.87)	0.001
Parto su indicazione medica				
<i>Si (n=360)</i>				
Femmine	150 (25.4)	21 (12.9)	<i>Reference</i>	
Maschi	139 (23.5)	50 (30.7)	2.57 (1.47-4.5)	
<i>No (n=394)</i>				
Femmine	149 (25.2)	40 (24.5)	<i>Reference</i>	
Maschi	153 (25.9)	52 (31.9)	1.27 (0.79-2.02)	0.035
Abbreviazioni: *come ottenuto dalle equazioni di regressione logistica includenti le variabili di esplicazione e di outcome.				

Bibliografia

1. Stevenson DK, Verter J, Fanaroff AA et al. Sex differences in outcomes of very low birthweight infants: the newborn male disadvantage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* Ed 2000;83:F182-85.
2. Vohr BR, Wright LL, Dusick AM et al. Neurodevelopmental and functional outcomes of extremely low birth weight infants in the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, 1993-1994. *Pediatrics* 2000;105:1216-1526.
3. Hintz SR, Kendrick DE, Vohr BR et al. Gender differences in neurodevelopmental outcomes among extremely preterm, extremely-low-birthweight infants. *Acta Paediatr* 2006;95:1239-1248.
4. Hurn PD, Vannucci SJ, Hagberg H. Adult or perinatal brain injury Does sex matter? *Stroke* 2005;36:193-195.
5. Johnston MV, Hagberg H. Sex and the pathogenesis of cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* 2007;49:74-78.

6. Jarvis S, Glinianaia SV, Fauconnier JF et al. Case gender and severity in cerebral palsy varies with intrauterine growth. *Arch Dis Child* 2005;90:474-479.
7. Davey DA, McGillivray IM. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-898.
8. Parazzini F, Cortinovis I, Bortolus R et al. Standard di peso alla nascita in Italia. *Ann Ost Gin Med Perin* 1991;112:203-246.
9. MacDonald D, Grant A, Sheridan-Pereira M et al. The Dublin randomized controlled trial of intrapartum fetal heart rate monitoring. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152:524-539.
10. Papile LA, Burstein J, Burstein R et al. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weight less than 1500 gm. *J Pediatr* 1978;92:529-534.
11. Amiel-Tison C, Grenier A. Evaluation Neurologique du Nouveau-ne et du Nourisson. *Masson*, Paris 1980.
12. Bayley N. Bayley Scales of Infant Development, 2nd edn. *Psychological Corporation*, San Antonio 1993.
13. DeVries LS, Dubowitz LM, Dubowitz V et al. Predictive value of cranial ultrasound in the newborn baby: a reappraisal. *Lancet* 1985;ii:137-140.
14. Hosmer DW, Lemeshow S. Applied Logistic Regression, 2nd edn. *John Wiley*, New York 2000.
15. Greenland S. Modeling and variable selection in epidemiologic analysis. *Am J Public Health* 1989;79:340-349.
16. Steyerberg EW, Eijkemans MJC, Habbema DF. Stepwise selection in small data sets: a simulation study of bias in logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol* 1999;52:935-942.
17. Steyerberg EW, Harrell FE, Borsboom GJJM et al. Internal validation of predictive models: efficiency of some procedures for logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol* 2001;54:774-781.
18. Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A et al. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. *Dev Med Child Neurol* 2007;49(suppl. 109):8-14. Erratum: *Dev Med Child Neurol* 2007;49:480.
19. Whitaker AH, Feldman JF, Lorenz JM et al. Motor and cognitive outcomes in nondisabled low-birth-weight adolescents. Early determinants. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006;160:1040-1046.
20. O'Shea TM. Classification of cerebral palsy. An epidemiologist's perspective. *Dev Med Child Neurol* 2007;49(suppl. 109):29-30.
21. Ancel PY, Marret S, Larroque B et al. The Epipage Study Group Are maternal hypertension and small-for-gestational age risk factors for severe intraventricular hemorrhage and cystic periventricular leukomalacia? Results of the EPIPAGE cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:178-184.
22. Livinec F, Ancel PY, Marret S et al. Epipage Group. Prenatal risk factors for cerebral palsy in very preterm singletons and twins. *Obstet Gynecol* 2005;105:1341-1347.
23. Tioseco JA, Aly H, Essers J et al. Male sex and intraventricular hemorrhage. *Pediatr Crit Care Med* 2006;7:40-44.
24. Reiss AL, Kesler SR, Vohr B et al. Sex differences in cerebral volume of 8-year-olds born preterm. *J Pediatr* 2004;145:242-249.
25. Ingemarsson I, Herbst A, Thorngren-Jerneck K. Long term outcome after umbilical artery acidemia at term birth: influence of gender and duration of fetal heart rate abnormalities. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:1123-1127.
26. Bry K, Lappalainen U, Waffarn F et al. Influence of fetal gender on the concentration of interleukin-1 receptor antagonist in amniotic fluid and in newborn urine. *Pediatr Res* 1994;35:130-134.
27. Zhu C, Xu F, Wang X et al. Different apoptotic mechanisms are activated in male and female brains after neonatal hypoxia-ischaemia. *J Neurochem* 2006;96:1016-1027.