

INDICE

1. Introduzione _____	pag. 1
1.1. Metabolismo del glucosio _____	pag. 1
1.2. Insulina e Glucagone _____	pag. 8
1.3. Glicemia _____	pag. 9
1.4. Dosaggio della glicemia _____	pag. 10
1.5. Neonato pretermine _____	pag. 13
2. Scopo _____	pag. 17
3. Materiali e Metodi _____	pag. 18
4. Risultati _____	pag. 19
5. Discussione _____	pag. 26
6. Bibliografia _____	pag. 27

INTRODUZIONE

Metabolismo del glucosio

Il glucosio è un monosaccaride chiave per la sopravvivenza in quanto rappresenta la principale fonte di energia dell'organismo. Dopo un pasto glucidico, il glucosio entra negli enterociti per trasporto facilitato in favore di gradiente oppure mediante trasporto attivo con sinporto di ioni Na^+ che sono poi pompate all'esterno dalle pompe Na^+/K^- presenti sulla membrana dell'enterocita per mantenere costante il contenuto intracellulare di Na^+ . Altri monosaccaridi come fruttosio e galattosio sono assorbiti dall'enterocita con meccanismi simili. La velocità di assorbimento del glucosio è intermedia tra quella del fruttosio e del galattosio, rispettivamente (0.4 vs 1.0 vs 1.1 g/kg corporeo/h). L'enterocita rilascia i monosaccaridi per diffusione semplice all'interno della vena porta che porta al fegato. La velocità di assorbimento è maggiore di quella di rilascio per cui la glicemia tende ad aumentare dopo 1 ora dal pasto glucidico per poi ritornare a valori normali nelle 2 ore successive. Il glucosio entra nelle cellule dell'organismo tramite trasportatori di membrana dedicati, GLUT, e una volta all'interno della cellula subisce una fosforilazione ad opera di enzimi esochinasi (presenti in tutte le cellule) e glucochinasi (solo nel fegato). Le esochinasi sono enzimi con bassa specificità ma alta affinità per il glucosio. Non sono inducibili e la loro attività è inibita dal prodotto della reazione che catalizzano, ossia il glucosio-6-fosfato (G6P). Le glucochinasi hanno invece una alta specificità per il glucosio ma bassa affinità. La loro produzione è indotta da insulina (sono inducibili) e non sono inibiti dal G6P. Ciò permette alle cellule che hanno assunto una sufficiente quantità di glucosio di non assorbirne più a vantaggio di altre che ne hanno bisogno e consente al fegato di continuare la produzione di G6P che può essere usato per accumulato come glicogeno (glicogenosintesi). La conversione del glucosio in G6P ha un duplice scopo: rende possibile l'ingresso del glucosio nelle diverse vie metaboliche e rende difficile il passaggio del glucosio attraverso la membrana evitando la sua fuoriuscita dalla cellula. Il G6P è un reagente o prodotto in diversi cicli metabolici in funzione delle necessità dell'organismo e della specializzazione del tessuto: glicolisi, gluconeogenesi, ciclo dei pentosi fosfato, glicogenosintesi e glicogenolisi.

La *glicolisi* è un processo catabolico che si svolge nel citoplasma e che porta alla formazione di 2 molecole di piruvato a partire da 1 molecola di glucosio. Consiste di 10 reazioni accoppiate e si possono distinguere 3 fasi:

A. FASE ENDOERGONICA (-2 ATP)

- 1) formazione del glucosio in G6P (-1 ATP).
- 2) isomerizzazione del G6P in fruttosio-6-fosfato (F6P) catalizzata dall'enzima fosfoglucoisomerasi in presenza di Mg^{2+} (reversibile).

- 3) fosforilazione del F6P in fruttosio-1,6-bisfosfato (F-1,6-PP) catalizzata dall'enzima fosfofruttochinasi 1 (PFK 1) in presenza di Mg^{2+} e consumo di 1 molecola di ATP (irreversibile). A basse concentrazioni, l'ATP si lega al sito catalitico insieme al Mg^{2+} stimolando la catalisi, mentre ad alte concentrazioni si lega al sito allosterico al posto dell'AMP (che agisce da effetto positivo) ostacolando la catalisi. Il flusso glicolitico è regolato quindi dal rapporto ATP/AMP che riflette le condizioni energetiche cellulari. Nel fegato, la PFK 1 è attivata dal fruttosio-2,6-bisfosfato (si forma dal F6P per azione della *fosfofruttochinasi 2* o PFK 2) che è 10 volte più potente dell'AMP.

B. FASE INTERMEDIA (0 ATP)

- 4) scissione del F-1,6-PP in diidrossiacetone-fosfato e gliceraldeide-3-fosfato (G3P) catalizzata da aldolasi (reversibile e sbilanciata all'equilibrio verso il reagente per cui per procedere è necessario che uno dei 2 prodotti sia continuamente sottratto).
- 5) isomerizzazione del diidrossiacetone-P in G3P per azione della trioso-fosfato isomerasi (reazione all'equilibrio sbilanciata verso il reagente ma c'è continua sottrazione di G3P che viene consumata nella glicolisi).

C. FASE ESERGONICA (+4 ATP)

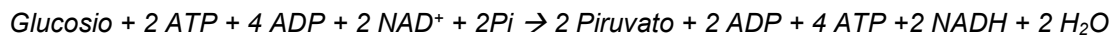
- 6) incorporazione di fosfato inorganico (P_i) nella G3P con formazione di 2 molecole di 1,3-bisfosfoglicerato per azione dell'enzima G3P deidrogenasi con 2 molecole di NAD^+ ridotto in NADH.
- 7) trasferimento del radicale fosforico (P) dell'1,3-bisfosfoglicerato all'ADP con formazione di 2 molecole di 3-fosfoglicerato e 2 di ATP ad opera dell'enzima fosfoglicerato chinasi (PGK).
- 8) spostamento del radicale fosforico in posizione 3 del 3-fosfoglicerato alla posizione 2 con formazione di 2 molecole di 2-fosfoglicerato per azione dell'enzima fosfoglicerato mutasi in presenza di Mg^{2+} e 2,3-bisfosfoglicerato (la concentrazione di quest'ultimo è molto elevata negli eritrociti dove è usato sia come cofattore di questa tappa della glicolisi sia come modulatore dell'affinità dell'emoglobina per l' O_2).
- 9) deidratazione del 2-fosfoglicerato con produzione di 2 molecole di fosfoenolpiruvato (PEP) e 2 di H_2O per azione dell'enzima enolasi in presenza di Mg^{2+} .
- 10) trasferimento del gruppo fosforico del PEP all'ADP con formazione di 2 molecole di PIRUVATO e 2 di ATP per azione dell'enzima piruvato chinasi (PK) in presenza di K^+ , Mg^{2+} o Mn^{2+} (irreversibile). La PK è inibita da ATP, acidi grassi e citrato (prodotti a valle) e attivata dal F-1,6-PP. Esistono 3 forme di PK: M (muscolo e cervello), L (fegato e sensibile a dieta ed ormoni ossia digiuno inibiscono

l'enzima mentre l'insulina lo fa aumentare), A (altri tessuti). Da notare che il piruvato ha una doppia forma, enolica e chetonica (tautomeria), e non è fosforilato e questo gli permette di passare la membrana mitocondriale.

La regolazione della glicolisi dipende da:

- ✓ disponibilità di glucosio
- ✓ concentrazione di G6P: se elevata inibita la glicolisi e stimolata la glicogenosintesi.
- ✓ attività di PFK 1 e PK: attivate in caso di deficienza energetica e disattivate in caso di surplus energetico.
- ✓ disponibilità di NAD⁺

La reazione complessiva è:



La resa energetica è pari al 28%. I NADH prodotti durante la glicolisi vengono trasferiti all'interno dei mitocondri tramite sistemi navetta (diidrossiacetone-p/glicerolo-3-fosfato e malato/aspartato) e resi disponibili per la catena di trasporto di elettroni nell'ambito della fosforilazione ossidativa. In condizioni di anaerobiosi (ad es. nel muscolo ed eritrociti), 2 molecole di piruvato sono ridotte in 2 di acido lattico per azione dell'enzima lattato deidrogenasi con NADH (quello della reazione dalla G3P) che si ossida in NAD⁺. Poi quando ritorna l'ossigeno, il lattato è riossidato in acido piruvico. In *aerobiosi*, il piruvato della glicolisi passa nel mitocondrio tramite un carrier specifico e una volta all'interno della matrice mitocondriale reagisce con NAD⁺ e CoA (coenzima A) per formare acetil-CoA, NADH e CO₂.

In assenza di glucosio assunto con la dieta, tessuti come fegato e rene possono sintetizzarlo ex novo in un processo chiamato *gluconeogenesi*, le cui tappe coincidono con quelle della glicolisi ma con decorso opposto:

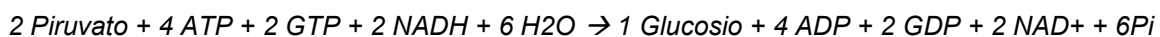
1. Fissazione di CO₂ sul 2 molecole di piruvato con formazione di 2 molecole di ossalacetato e 2 di ADP catalizzata dall'enzima piruvato carbossilasi che è un enzima mitocondriale biotina-dipendente e regolato allostericamente dall'acetil-CoA (se tanto allora stimolata gluconeogenesi altrimenti no). Per far uscire dal mitocondrio l'ossalacetato viene ridotto a malato, o transaminato in aspartato o incorporato nel citrato.
2. Trasferimento di un gruppo fosforico dalla GTP all'ossalacetato con formazione di 2 molecole di PEP, 2 di GDP e 2 di CO₂ catalizzata dall'enzima PEP carbossichinasi che è un enzima citoplasmatico.
3. Formazione del 2 molecole di 2-fosfoglicerato.
4. Trasferimento del fosfato con formazione di 2 molecole di 3-fosfoglicerato.

5. Fosforilazione a 2 molecole di 1,3-bisfosfoglicerato con consumo di 2 molecole di ATP.
6. Defosforilazione a 2 molecole di G3P con consumo di 2 NADH e 2 Pi.
7. Conversione della G3P in diidrossiacetone-P dall'enzima triosofosfato isomerasi.
8. Conversione in F-1,6-PP.
9. Idrolisi di F-1,6-PP a F6P catalizzata dall'enzima fruttosio-1,6-bisfosfatasi.
10. Isomerizzazione del F6P in G6P ad opera dell'enzima glucosio-6-P isomerasi.
11. Idrolisi del G6P a glucosio ad opera dell'enzima glucosio-6-P fosfatasi che si trova legato alla membrana interna del reticolo endoplasmatico (RE) ed è presente solo nelle cellule dei tessuti che possono rilasciare glucosio come fegato e rene.

I metaboliti iniziali della gluconeogenesi vengono formati a partire da precursori non glucidici:

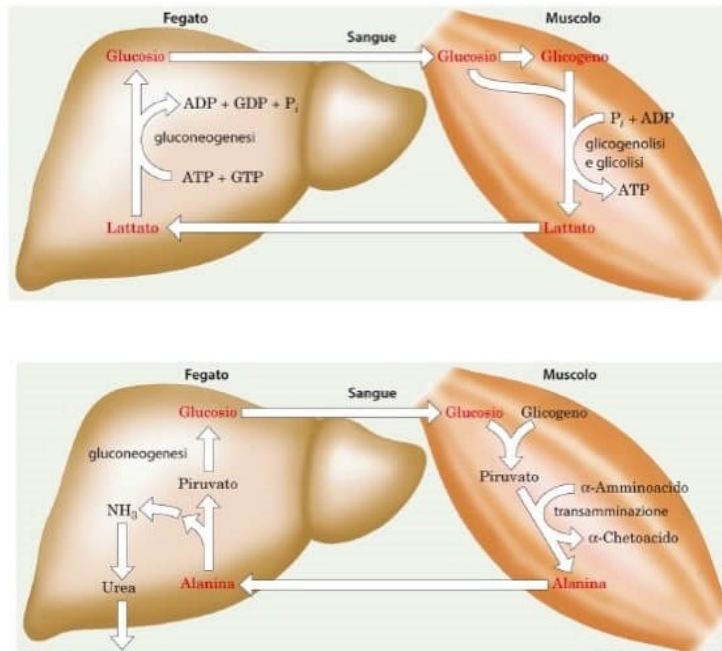
- acido lattico (da metabolismo anaerobio),
- aminoacidi glucogenici come alanina, acido glutammico, glicina e glutammina (dalla dieta),
- glicerolo (idrolisi dei trigliceridi).

La gluconeogenesi è stimolata da cortisolo, alte concentrazioni di lattato, acetil-CoA e ATP (rapporto ATP/AMP alto) ed è inibita dall'insulina. La reazione complessiva è:



È un processo endoergonico sostenuto dalla β -ossidazione degli acidi grassi che produce ATP, NADH, acetil-CoA e glicerolo.

La glicolisi e gluconeogenesi non avvengono mai contemporaneamente. Questi 2 processi legano fegato e muscolo in un ciclo metabolico noto come *ciclo di Cori*: il muscolo in anaerobiosi produce acido lattico che viene rilasciato nel sangue arriva al fegato che lo converte in piruvato che usa per formare glucosio che rilascia nel sangue e viene assorbito dal muscolo. Nel muscolo c'è anche transaminazione del piruvato con altri aminoacidi con formazione di alanina che è rilasciata in circolo e raggiunge il fegato dove lo scheletro carbonioso è convertito in glucosio mentre il gruppo amminico (NH_4^+) viene convertito in urea. Questo ciclo è noto come *ciclo di Cahill*.



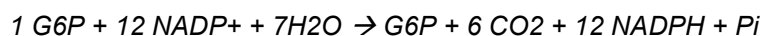
Il ciclo dei pentoso fosfato si svolge nel citoplasma e permette la produzione di:

- pentosi per la sintesi di acidi nucleici, coenzimi e nucleotidi.
- NADPH per la promozione dei processi riduttivi come biosintesi di acidi grassi e colesterolo.
- interconversione dei glucidi a 3, 4, 5, 6 e 7 atomi di carbonio.

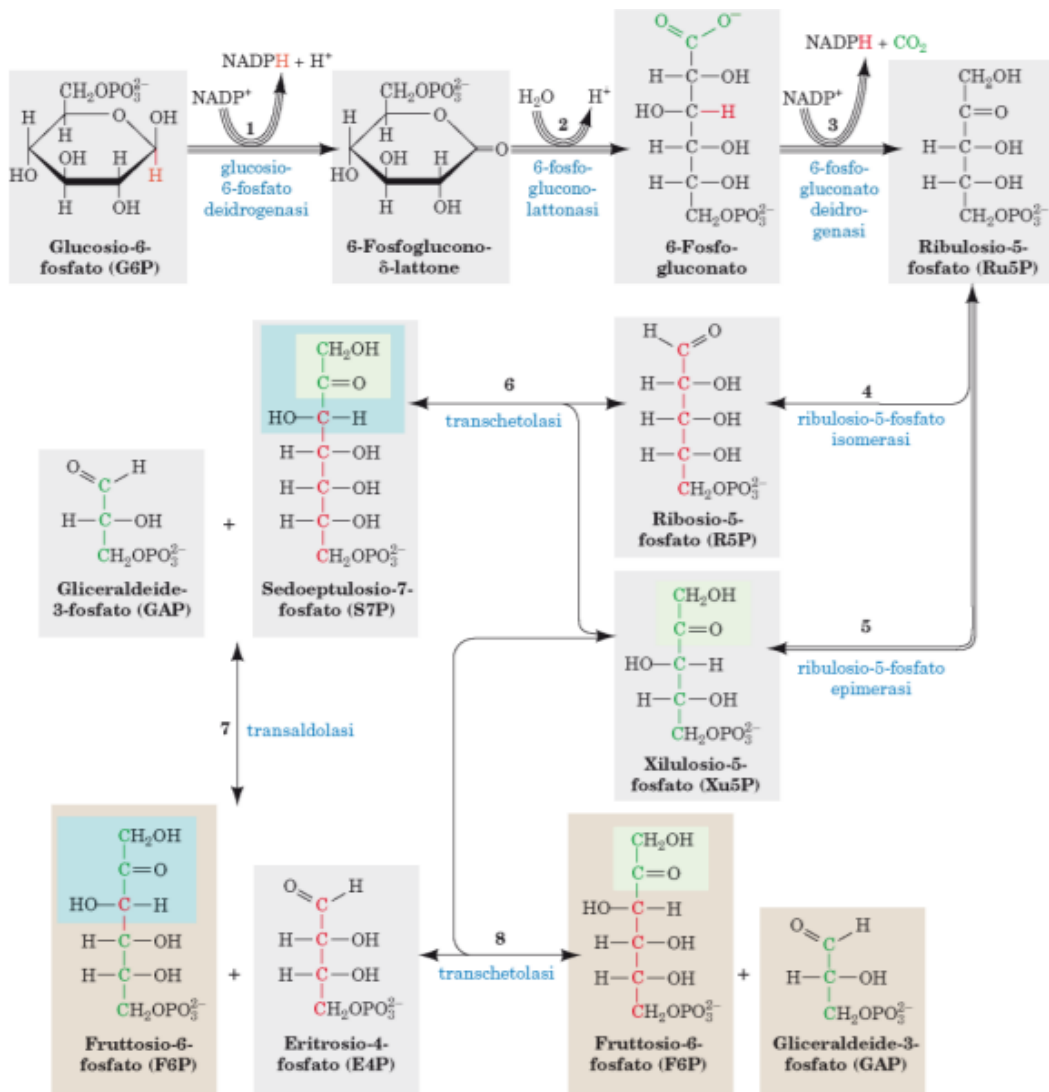
È suddiviso in 2 fasi:

- a. Ossidativa irreversibile (+2 NADPH):
 - 1) G6P è ossidato in un lattone dell'acido fosfogluconico e NADPH per azione dell'enzima glucosio-6-P deidrogenasi NADP+-dipendente.
 - 2) Idrolisi del lattone in 6-fosfogluconato per azione dell'enzima 6-fosfogluconato lattonasi.
 - 3) Decarbossilazione ossidativa del 6-fosfogluconato in ribulosio-5-fosfato, NADPH e CO₂ catalizzata dall'enzima 6-fosfogluconato deidrogenasi NADP+-dipendente.
- b. Non ossidativa reversibile: ribulosio-5-fosfato isomerizzato in ribosio-5-fosfato per produrre nucleotidi e coenzimi, per azione della fosfopentoso isomerasi. Una certa quota di ribulosio-5-fosfato è riconvertita in G6P.

La reazione complessiva è:



Quindi, nel ciclo del pentoso fosfati, ogni mole di glucosio produce 12 NADPH che sono lo scopo primario. Questo ciclo è molto attivo nei tessuti lipogenetici (fegato, tessuto adiposo, ghiandola mammaria) mentre irrilevante nel muscolo. Il G6P entra nel ciclo di pentoso fosfati se c'è necessità di biosintesi di nuove molecole e un eccesso di NADP⁺ (in caso contrario si attiva la glicolisi). La regolazione è a carico dell'enzima glucosio-6-P deidrogenasi che riduce la sua attività in caso di un alto rapporto NADPH/NADP⁺.



L'organismo utilizza monosaccaridi per sintetizzare glicogeno nel processo noto come *glicogenosintesi*. Il glicogeno è un polisaccaride costituito da unità di α-glucosio legate tramite legami α-1,4 nelle porzioni lineari e α-1,6 nelle ramificazioni (lo rendono più solubile). È la principale forma di deposito di glucidi nei tessuti animali. La glicogeno-sintesi prevede:

- 1) Conversione del G6P in G1P in presenza di G-1,6-PP per azione della fosfoglucomutasi.

- 2) G1P reagisce con UTP per formare UDP-GLUCOSIO e PPI (pirofosfato inorganico) per azione della glucosio-1-P uridil trasferasi. Il PPI è poi demolito in 2 molecole di fosfato inorganico ad opera della pirofosfatasi.
- 3) Incorporazione di UDP-GLUCOSIO nel GLICOGENO per azione dell'enzima glicogeno sintetasi. Le ramificazioni sono catalizzate dalla oligo-glican trasferasi. La sintesi del glicogeno non può essere attuata ex novo (solo mediante apposizione di unità di glucosio a molecole di glicogeno preesistenti dette glicogenine).

Il processo richiede una spesa di 1 ATP (processo endoergonico), necessario per la fosforilazione di UDP in UTP. La regolazione della glicogenosintesi avviene in modo diverso nel:

- Muscolo: glicogeno sintetasi inibita da alte concentrazioni di glicogeno, cAMP intracellulare stimolato da adrenalina, e Ca^{2+} .
- Fegato: glicogeno sintetasi attivata da un eccesso di G6P o defosforilazione dell'enzima.

La *glicogenolisi* è il processo esoergonico, opposto alla glicogenosintesi, che consente la trasformazione del glicogeno lineare in G1P per azione dell'enzima glicogeno fosforilasi. La degradazione delle ramificazioni richiede l'intervento di un enzima deramificante. Il G1P è poi successivamente convertito in G6P e infine in glucosio. La regolazione della glicogenolisi avviene in modo diverso nel:

- Muscolo: glicogeno fosforilasi attivata da un alto rapporto AMP/ATP o alte concentrazioni di Ca^{2+} (contrazione muscolare). La logica è fornire energia alla glicolisi durante la contrazione.
- Fegato: glicogeno fosforilasi attivata dall'alta concentrazione di glucagone. La logica è immettere glucosio nel sangue.

Un deficit degli enzimi addetti al metabolismo del glicogeno comporta una serie di patologie dette glicogenosi (Morbo di von Gierke, Pompe, Cori, Andersen, McArdle e Hers).

Insulina e glucagone

L'organismo secerne due ormoni, il glucagone e l'insulina, che regolano il metabolismo del glucosio e mantengono i livelli glicemici nella norma. L'*insulina* è una molecola costruita da 2 catene polipeptidiche tenute insieme da legami disolfuro e numerosi legami deboli (catena A con 21 aminoacidi, B con 30 aminoacidi). In soluzione le molecole di insulina tendono ad aggregarsi in dimeri, tetrameri o esameri. Il pancreas la secerne in forma esamerica con 2 atomi di Zn centrali. È prodotta dalle cellule beta del pancreas in forma di precursore inattivo (catena con 81 aminoacidi), detto proinsulina: catena A e B e peptide C che viene staccato durante la

conversione ad insulina. La proinsulina viene trasformata in insulina nell'apparato di Golgi e rilasciata per esocitosi dalle vescicole delle cellule beta delle isole di Langerhans del pancreas. Il rilascio dell'insulina è preceduto da un aumento di Ca^{2+} nel citoplasma per interazione glucosio-membrana. L'insulina viene secreta nella vena pancreatica che si riversa nel sistema portale e quindi passa nel fegato in cui viene parzialmente demolita prima di entrare nel circolo ematico. La vita media dell'insulina è 10 minuti. È inattivata da enzimi proteolitici contenuti nei lisosomi. Viene prodotta circa 1 unità di insulina per kg corporeo. Il rilascio di granuli di insulina è regolato dal glucagone che stimola la formazione di cAMP che causa l'aumento di insulina, e dalla glicemia che ne stimola il rilascio.

L'insulina promuove l'assunzione di glucosio e aminoacidi, sintesi di glicogeno, acidi grassi e proteine. Un deficit insulinico (mancata produzione, produzione di insulina non funzionante oppure resistenza insulinica) comporta:

- ✓ iperglicemia
- ✓ glicosuria
- ✓ aumento dei NEFA ematici
- ✓ steatosi epatica e aumento delle VLDL

Si parla di diabete mellito insulino-dipendente se il deficit è legato a una mancata produzione o produzione di insulina non funzionante, mentre è definito come insulino-resistente se l'organismo non risponde ad una produzione insulinica normale.

Il *glucagone* è un polipeptide con 29 aminoacidi, sintetizzato dalle cellule alfa del pancreas in forma di proglucagone che viene accumulato in vescicole e secreto per esocitosi. Viene anche prodotto dalle cellule dell'intestino con l'ingresso del bolo alimentare (enteroglucagone). È necessario per produrre uno stato di iperglicemia e stimola la secrezione di insulina. Ha come bersaglio il fegato dove stimola la glucogenolisi e il tessuto adiposo dove stimola la lipolisi. In entrambi questi tessuti si lega alla membrana a livello di recettori specifici e induce la produzione di cAMP. La sua azione è antagonista a quella dell'insulina e simile a quella dell'adrenalina.

Glicemia

La glicemia è la concentrazione di glucosio nel sangue ed è espressa generalmente in mg/dL. Nell'uomo il range di normalità della glicemia a digiuno è pari a 60-125 mg/dL e dopo un pasto glucidico sale fino a 140-150 mg/dL. Il valore di glicemia dipende dall'immissione nel torrente sanguigno di glucosio dall'intestino, fegato e rene e dall'assorbimento tissutale dello stesso, regolato dagli ormoni. Valori di glicemia >175 mg/dL (iperglicemia) o <40 mg/dL (ipoglicemia) sono ritenuti a rischio per la salute. L'iperglicemia è un riscontro

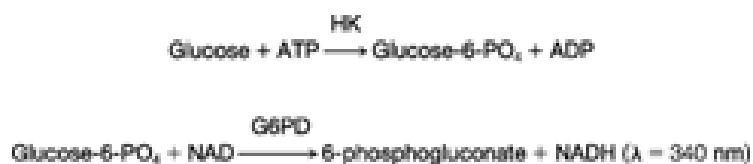
comune nei soggetti affetti da diabete, sia insulino dipendente che resistente. La diagnosi di diabete viene posta se c'è il riscontro di una glicemia a digiuno > 126 mg/dL in almeno 2 occasioni distinte oppure di una glicemia > 200 mg/dL dopo 2 ore dall'inizio del test per la tolleranza glucidica orale (o test da carico orale di glucosio). Tale test consiste in una valutazione glicemica basale e poi dopo 2 ore dalla somministrazione di una soluzione con 1 g/kg corporeo di glucosio. Il diabete è associato a malattie cardiovascolari, danni al sistema nervoso (neuropatie), danni ai reni (nefropatia diabetica) e insufficienza renale. Nel diabete si ha glicosuria, ossia glucosio nelle urine perché i tubuli renali non riescono a riassorbire l'eccesso di glucosio filtrato a livello glomerulare (la soglia al di sopra della quale si ha glicosuria: 170-180 mg/dL). L'ipoglicemia può dipendere da eccessiva produzione di insulina, apporto glucidico non adeguato, eccessivo consumo di glucosio (es. per attività fisica prolungata e intensa), o danno epatico. Segni e sintomi comuni di questa condizione sono: stanchezza, irritabilità e confusione mentale. Nei casi più gravi (ipoglicemia protratta per diversi minuti) si può riscontrare danno neuronale. Quest'ultimo sintomo è sostenuto dal fatto che le cellule nervose ricavano energia in via esclusiva dal glucosio, proprio come gli eritrociti, a differenza delle altre cellule dell'organismo che in assenza di glucosio possono produrre acetil-CoA per β -ossidazione degli acidi grassi. In assenza di glucosio si genera un eccesso di ossalacetato e per transaminazione di aspartato che sembrerebbe il responsabile del danno cerebrale (effetto neurotossico). Le regioni tipicamente colpite da un episodio di ipoglicemia sono corteccia, talamo e nuclei della base, mentre tronco cerebrale e cervelletto sono risparmiati.

Dosaggio della glicemia

Il dosaggio della glicemia ha una grande importanza clinica e permette al medico di regolare l'apporto di glucosio in base al fabbisogno di glucosio del paziente per evitare episodi di ipo o iperglicemia che possono sia causare morte che peggiorare significativamente la qualità di vita.

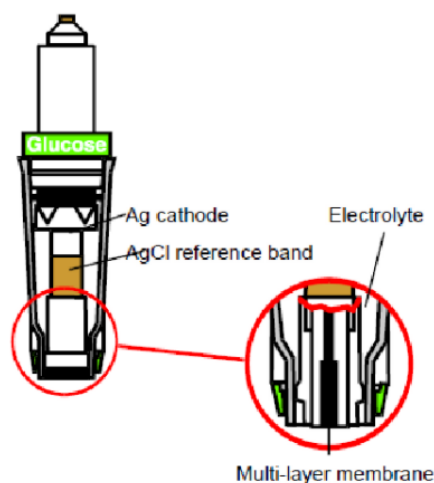
In ospedale, la glicemia viene misurata su sangue intero in provetta senza anticoagulante e con gel separatore per ottenere siero oppure in provette contenenti fluoruro di citrato che stabilizza la glicemia per almeno 48 ore sopprimendo la glicolisi per inibizione degli enzimi esochinasi e fosfofruttochinasi. La misurazione viene poi eseguita nel laboratorio centrale utilizzando prevalentemente metodi enzimatici colorimetrici. I reattivi necessari per l'analisi sono in genere disponibili in un kit già pronto all'uso da inserire nella strumentazione di laboratorio in modo da evitare contaminazioni ed errori di preparazione con riduzione di falsi positivi e negativi. Ad esempio, lo strumento Dimension Vista 1500 (Siemens Healthcare Diagnostics, Milano, Italia) utilizza il metodo della esochinasi per la determinazione del glucosio: il glucosio viene convertito in G6P ad opera di un enzima

esochinasi in presenza di ATP. Il G6P viene ossidato dal NAD⁺ a 6-fosfogluconato e NADH per azione dell'enzima glucosio 6 fosfato deidrogenasi. Il NADH viene quantificato spettrofotometricamente a 340 nm.



In alcuni reparti, come la terapia intensiva o il pronto soccorso, in cui si ha la necessità di dosare H24 la glicemia si hanno a disposizione point of care testing (POCT) ossia apparecchiature che consentono un rapido dosaggio del glucosio ematico al letto del paziente per mano dell'infermiere o del medico. Esempi di apparecchiature POCT per il dosaggio del glucosio sono glucometri ed emogasanalizzatori. Il glucometro è un piccolo dispositivo con display LCD e slot per inserire le strisce reattive. Esso contiene un sensore per il glucosio e pulsanti per l'inserimento di informazioni utili per l'identificazione dell'esame. Certi modelli possiedono anche allarmi, storage interno e connettività wireless per trasferire i dati acquisiti al computer. Dopo che la striscia reattiva è inserita nello slot, una goccia di sangue viene depositata e diffonde per capillarità sulla striscia reattiva. Il dispositivo inizia il processo di misura automaticamente non appena il sangue viene dispensato e mostra il risultato in pochi secondi. Un segnale acustico indica solitamente che il test è iniziato e lo stesso accade quando termina. I glucometri oggi in commercio si basano su metodi elettrochimici sia amperometrici che colorimetrici. In un metodo amperometrico, le strisce reattive consistono di circa 10 strati di cui quello basale è in plastica mentre gli altri contengono reattivi come glucosio ossidasi e ferrocianuro di potassio oppure elettrodi solitamente in argento. L'enzima glucosio ossidasi reagisce con il glucosio ematico producendo acido gluconico che poi reagisce con il ferricianuro per formare ferrocianuro. L'elettrodo ossida il ferrocianuro e questo genera una corrente che è direttamente proporzionale alla concentrazione di glucosio. Nel metodo colorimetrico, un sensore rileva le proprietà ottiche della striscia reattiva in seguito all'interazione con campione di sangue. Il principio usato è quello della riflettanza, per rilevare l'intensità del colore nello strato di reazione della striscia reattiva mediante fotometria. In questo caso il campione di sangue è esposto ad una membrana che copre il tampone di reazione ed è rivestita con glucosio ossidasi. La reazione provoca il cambiamento di colore e l'intensità di questo cambiamento di colore è direttamente proporzionale alla quantità di glucosio nel campione di sangue. Un LED viene usato come sorgente luminosa e la luce riflessa dal campione viene rilevata da un fotodiodo che misura l'intensità della luce e la converte in un segnale elettrico. La corrente generata registrata è direttamente proporzionale alla concentrazione ematica di glucosio.

L'emogasanalizzatore si avvale spesso di metodi amperometrici per la determinazione della glicemia. Ad esempio, l'emogasanalizzatore ABL700 (DeMori, Milano, Italia) utilizza un elettrodo che consiste di un catodo in argento ed un anodo in platino. Esso è riempito con una soluzione elettrolitica e presenta in punta una membrana multistrato composta da: strato esterno permeabile al lattato, strato di mezzo contenente l'enzima glucosio ossidasi e strato interno permeabile al perossido di idrogeno. Il glucosio presente nel campione di sangue permea attraverso il primo strato della membrana e viene convertito in acido gluconico dall'enzima glucosio ossidasi. La reazione produce anche H₂O₂ che permea attraverso la membrana interna e si ossida sull'anodo di platino. Dato che al sistema è applicata una tensione polarizzante costante a 675mV, l'ossidazione del perossido di idrogeno produce una corrente elettrica proporzionale alla quantità di H₂O₂ che a sua volta è proporzionale alla quantità di lattato del campione di sangue permeata attraverso la membrana.



Tipici range di misura dei metodi usati per il dosaggio della glicemia sono riportati in tabella 1.

Tabella 1. Range di misura, metodi e strumenti usati per la determinazione del glucosio.

Metodo	Strumento	Range di misura, mg/dL
Colorimetrico (esochinasi)	Dimension Vista 1500	1-500
Colorimetrico (glucosio ossidasi)	Glucometro portatile	20-600
Amperometrico (glucosio ossidasi)	ABL700	0-1080

Neonato pretermine

Un bambino nato prima della 37 settimana di gestazione completa è considerato prematuro. La nascita pretermine è un evento relativamente frequente: si stima che in Europa il 7% dei neonati nascano prematuri, circa 350.000 bambini ogni anno. Nelle Marche, ogni anno nascono circa 12.000 neonati di cui il 94% a termine (37-42 settimane), 5% pretermine (32-36 settimane) e 1% con prematurità estrema (<32 settimane). All'ospedale pediatrico "G.Salesi" di Ancona, sono ricoverati ogni anno circa 100 neonati con prematurità grave. La prematurità rimane la prima causa di morte in epoca perinatale. Le moderne cure negli ultimi decenni hanno fatto importanti passi avanti nell'assistenza del neonato prematuro spostando il limite di sopravvivenza ad età gestazionali sempre minori e pesi neonatali estremi. Dal 2004 ad oggi, la sopravvivenza dei neonati ricoverati al "G.Salesi" di Ancona con prematurità grave è passata dall'11 al 6%. Dopo un primo entusiasmo per il traguardo raggiunto il peso delle complicità sul lungo periodo ha posto nuovi problemi. Importanti disabilità, neurologiche e non, gravano sul futuro di questi neonati: deficit motori e cognitivi, disabilità intellettive, disturbi dell'apprendimento, cecità e sordità. Uno dei test più utilizzati per determinare il ritardo di sviluppo neurologico dei neonati pretermine e nella sua più recente versione fornisce un punteggio distinto per abilità cognitive, motorie e di linguaggio. Il peso sociale, economico e di assistenza per le famiglie dei bambini è notevole. Si è imposta quindi la necessità di un attento studio dello sviluppo cerebrale del neonato prematuro in un habitat sfavorevole come quello extrauterino, cosicché approfondendo i fattori associati al danno si possano trovare strategie per limitarlo. Numerosi fattori contribuiscono ad un ottimale sviluppo dell'encefalo nel neonato: nutrizione, fattori endocrini, danni ischemici e ripercussivi, e infiammazione. L'impatto della ipoglicemia sul neurosviluppo a breve e lungo termine nel neonato pretermine resta ancora oggi controverso. Alcuni autori trovano una associazione negativa tra ipoglicemia e neurosviluppo mentre altri non riscontrano alterazioni neurocognitive nei pazienti ipoglicemici. Inoltre, ad oggi non sono disponibili studi prospettici randomizzati di adeguata dimensione che consentano di chiarire tale associazione. In *Tabella 2* è riepilogato lo stato dell'arte sull'impatto dell'ipoglicemia sul neurosviluppo del neonato pretermine.

Tabella 2. Stato dell'arte sull'impatto dell'ipoglicemia sul neurosviluppo del neonato pretermine.

<i>Autore e studio</i>	<i>Pazienti e studio</i>	<i>Ipoglicemia</i>	<i>Test Glucosio</i>	<i>Follow-up</i>	<i>Test di Neurosviluppo</i>	<i>Fattori confondenti</i>	<i>Risultati principali</i>
Lucas, 1988	661 pazienti PN<1850 g Retrospectivo multicentrico	[Glu] <46 mg/dL	Dosaggio plasmatico	18 mesi	Scala di Bayley	sexo, GA, PN, IUGR, giorni di ventilazione meccanica, n° trasfusioni, n° infezioni sistemiche, Apgar, classe sociale, educazione materna	Ipoglicemia riduce i punteggi di neurosviluppo di 14 (mentale) e 13 (motorio) punti.
Goode, 2016	745 pazienti PN≤2500 g e GA≤37 W Retrospectivo longitudinale multicentrico	[Glu] <46 mg/dL	Destrostix, dosaggio plasmatico	3, 8 e 18 anni	PPVT-R, PPVT-R, WISC, PPVT-III e WASI	PN, GA, genere, gravità decorso clinico, razza, educazione materna, peso materno preconcezionale	Nessuna differenza del cognitivo e accademico tra ipoglicemici e normoglicemici.
Kaiser, 2015	1395 pazienti GA tra 23.0-42.0 W Retrospectivo	[Glu] < 35 mg/dL	Glucosio ossidasi	10 anni	Test di profitto in matematica e letteratura	livello socio-economico, educazione materna	Ipoglicemia si associa ad una riduzione dei punteggi di profitto in matematica e letteratura
Tin, 2012	566 pazienti GA<32 W	[Glu] ≤ 45 mg/dL	Glucosio ossidasi	2-15 anni	Scale di Griffiths, IQ, lettura e matematica,	luogo di ricovero nelle prime 2h di vita,	Non evidenti alterazioni neurocognitive nei pazienti che

	Retrospektivo multicentrico				scale di Weschler, Achenbach Child Behavior Check list, scala di Vineland Adaptive Behavior	GA, PN.	hanno presentato ipoglicemia per più di 3 giorni nei primi 10 giorni di vita
Tottman, 2017	443 pazienti PN<1500 g o GA<30W Retrospektivo	[Glu] ≤ 45 mg/dL	Emogas	2 anni	Scala di Bayley	GA, PN z-score, quintile socio-economico	Non ci sono associazioni significative tra ipoglicemia e sopravvivenza senza morbidità neonatale o sopravvivenza senza alterazione del neurosviluppo
McKinlay,2017	477 pazienti GA>32W Prospettico di coorte	[Glu] < 47mg/dL	Glucosio ossidasi	4-5 anni	Weschler Preschool and Primary Scale of Intelligence, Funzioni esecutive, MABC-2, BBVMI-6, valutazione visiva e audiometrica	Non specificato	Ipoglicemici hanno rischio di alterazioni neurosensoriali simile agli altri. Ipoglicemici hanno maggior rischio di bassi punteggi nelle funzioni esecutive e nell'integrazione visuo-motoria. Neonati esposti a ipoglicemia grave maggior rischio di bassi punteggi nelle funzioni esecutive e integrazione visuo-motoria.
McKinlay,2015	404 pazienti GA>35W Prospettico di coorte	[Glu] < 47mg/dL	Glucosio ossidasi	2 anni	Scala di Bayley, Funzioni esecutive, valutazione visiva e audiometrica	Non specificato	Ipoglicemia non associata ad outcome neurologici negativi.

Duvanel,1999	85 pazienti GA <34W Retrospectivo	[Glu] < 47mg/dL	Destrostix con conferma laboratoristica (glucosio ossidasi o metodo esochinasi)	6-12-18 mesi; 3.5-5 anni	Scala di Griffiths e scale di Aptitude	No	Test di Griffiths simili tra bambini ipoglicemici e non. I punteggi di 2 item della scala di McCarthy's (performance percettiva e scala motricità) a 3.5 anni sono più bassi nei bambini ipoglicemici.
Kerstjens,2012	832 pazienti GA tra 32.0-35.6W Retrospectivo	[Glu]<30 mg/dL	Non specificato	48 mesi	ASQ: comunicazione, motricità fine e grossolana, problem solving, funzionamento personale sociale	Genere, SGA, GA, educazione materna	Ipglicemia correlata con ritardo del neurosviluppo.
Abou-Elsaad, 2017	103 pazienti GA tra 24-38W Retrospectivo	[Glu]< 40 mg/dL	Dosaggio plasmatico	24-37 mesi	Valutazione interazione genitore-bambino. Esame obiettivo neurologico. Stanford Binnet Intelligence Scale 4th, Vineland social maturity scale, Standardized Arabic Language test, Audiometria, timpanometria, ABR.	Non specificato	Associazione significativa tra ipoglicemia neonatale capacità linguistiche generali, linguaggio espressivo ed età sociale.

GA: età gestazionale; BW: peso neonatale; W: settimane.

SCOPO

Determinare l'effetto dell'ipoglicemia nelle prime 6 ore di vita sul neurosviluppo a 3 di età corretta di neonati con età gestazionale alla nascita compresa tra 24.0 e 31.6 settimane.

MATERIALI E METODI

I neonati con età gestazionale alla nascita compresa tra 24.0 e 31.6 settimane ricoverati presso la terapia intensiva neonatale dell'Ospedale Pediatrico "G.Salesi" di Ancona dal 01/01/2018 al 31/07/2021 sono stati inclusi nello studio. Sono stati esclusi neonati con malformazioni congenite, anomalie cromosomiche, disordini genetici, outborn, glicemie nelle prime 6 ore di vita e dati di follow-up a 3 mesi mancanti.

Le glicemie dei pazienti ricoverati dal 01/01/2018 a 31/04/2021 sono state raccolte dalle grafiche infermieristiche e determinate in reparto mediante glucometri portatili ed emogasanalizzatore oppure in laboratorio centrale mediante il Dimension Vista 1500 in uso presso il settore di chimica-clinica. Le glicemie dei pazienti ricoverati dal 01/05/2021 al 31/07/2021 sono state misurate dallo scrivente presso il laboratorio analisi dell'ospedale pediatrico "G.Salesi" nell'ambito del periodo di tirocinio curriculare.

Brevemente, il campione di sangue del paziente è stato raccolto in provette prive di anticoagulante e con gel per permettere la separazione del siero previa centrifugazione a 3000 rpm per 10 minuti. Il campione dopo controllo e check-in è stato inserito nello strumento. Il metodo utilizzato per la determinazione del glucosio è basato sull'enzima esochinasi. I pazienti con almeno un valore di glicemia <40 mg/dL nelle prime 6 ore di vita è stato classificato come ipoglicemico (HYPO), mentre quelli con almeno un valore tra 60 e 150 mg/dL come normoglicemico (NORM).

Dati prenatali, neonatali, interventi e diagnosi principali in corso di ricovero sono stati prospetticamente registrati dal personale medico-infermieristico e sono stati estratti dal software di reparto (Neotools®, Milano, Italia). I punteggi di neurosviluppo a 3 mesi di età corretta sono ottenuti mediante test di Bayley III somministrato di routine dal personale medico a pazienti con età gestazionale inferiore a 32 settimane.

Questo studio è uno studio pilota per cui non è stato effettuato un calcolo a priori della dimensione campionaria. I dati sono stati riportati come media \pm deviazione standard, mediana (range interquartile) oppure no. (%). Test parametrici e non parametrici (t-test indipendente, test del Chi-quadrato, di Mann-Whitney, t-test per dati appaiati, test di McNemar e di Wilcoxon) sono stati utilizzati per confrontare il gruppo HYPO a quello NORM nell'analisi di coorte e di caso-controllo. Il valore di "p" è stato considerato significativo se < 0.05 . L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software SPSS versione 25.

RISULTATI

274 neonati pretermine rispettavano i criteri di inclusione e sono stati studiati. Dei 274 neonati, 13 avevano malformazioni congenite, anomali cromosomiche o disordini genetici, 38 erano outborn, e per 76 non erano disponibili dati di glicemia nelle prime 6 ore o di neurosviluppo a 3 mesi di età corretta. La valutazione fiale è stata eseguita su 130 neonati e 550 valori di glicemia nelle prime 6 ore di vita, di cui 70 sono stati misurati durante il tirocinio curriculare, sono stati utilizzati per la classificazione dei pazienti in ipoglicemici (IPO, N=30) e normoglicemici (NORM, N=97).

Caratteristiche demografiche, dati prenatali, principali complicanze della prematurità, dati di crescita e nutrizione dalla nascita al 36 settimane di età post mestruale dei pazienti IPO e NORM sono riportati in

Tabella 3.

	IPO N=30	NORM N=97	Diff.	p- value
GA - Gestational Age (days)	213±10	202±15	+11	0.000
BW – Birth Weight - g	1296±348	1081±327	+215	0.002
BW – SDS	-0.51±0.98	-0.46±0.90	-0.05	0.788
TL.B – Length at Birth - cm	38.7±3.8	36.8±3.8	+1.9	0.016
TL.B – SDS	-0.46±0.93	-0.33±0.99	-0.13	0.534
HC.B – Head Circumference - cm	27.2±1.9	26.0±2.2	+1.3	0.005
HC.B - SDS	-0.38±0.82	-0.21±0.92	-0.18	0.347
10CSGA, n (%)	7 (23%)	17 (18%)	-10(+6)	0.478
2SDSGA, n (%)	1 (3%)	7 (7%)	-6(-4)	0.679
Males, n (%)	16 (53%)	48 (49%)	-32(+4)	0.713
Apgar5min – no.	8.1±1.3	7.9±1.5	+0.2	0.562
Int. 0-24 hrs – no. (%)	12 (40%)	59 (61%)	-47(-21)	0.045
AntenatalCort.Ther.- no.(%)	30 (100%)	88 (91%)	-58(+9)	0.114
CS – no. (%)	19 (86%)	63 (85%)	-44(+1)	1.000
Surfactant – no. (%)	13 (43%)	54 (56%)	-41(-12)	0.237
MV – hours	20 10 74	38 16 163	-19	0.212
CPAP – hours	222 52 838	628 146 1009	-406	0.032
Oxygen duration – hours	140 2 978	171 23 935	-31	0.225

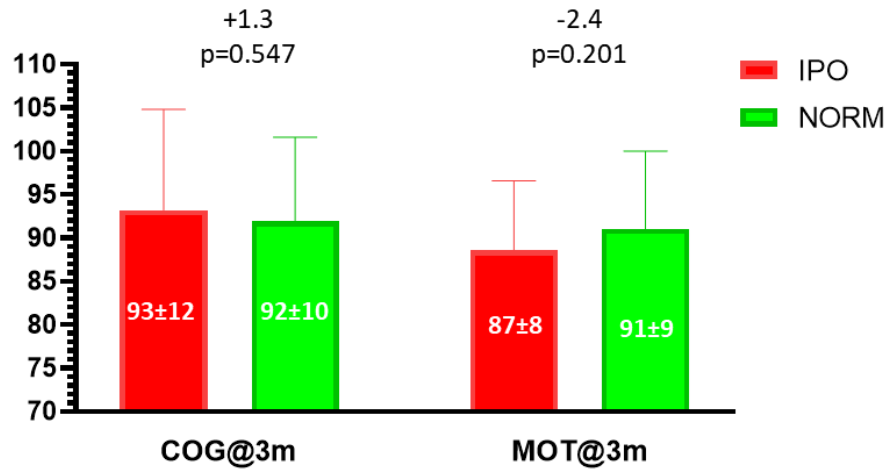
Antibiotics – no. (%)	22 (73%)	82 (85%)	-60(-11)	0.164
Caffeine duration – hours	480 352 923	888 534 1310	-408	0.058
Nitric oxide – no. (%)	1 (3%)	5 (5%)	-4(-2)	1.000
Dopamine – no. (%)	2 (7%)	15 (15%)	-13(-9)	0.357
RBC trasfusion – no. (%)	6 (20%)	42 (43%)	-36(-23)	0.021
RDS+HMD – no. (%)	19 (63%)	87 (90%)	-68(-26)	0.001
EOS – no. (%)	0 (0%)	8 (8%)	-8(-8)	0.197
PDA _{tot} – no. (%)	4 (13%)	42 (43%)	-38(-30)	0.002
ASPHYXIA _{tot} – no. (%)	0 (0%)	3 (3%)	-3(-3)	1.000
LOS Stoll– no. (%)	1 (3%)	18 (19%)	-17(-15)	0.043
LPV II-IV – no. (%)	1 (3%)	3 (3%)	-2(+0)	1.000
NEC II-III – no. (%)	1 (3%)	2 (2%)	-1(+1)	0.558
CHOLESTASIS – no. (%)	2 (7%)	8 (8%)	-6(-2)	1.000
ROP III-V – no. (%)	0 (0%)	1 (1%)	-1(-1)	1.000
BPD – no. (%)	4 (13%)	19 (20%)	-15(-6)	0.590
IVH III-IV – no. (%)	1 (3%)	5 (5%)	-4(-2)	1.000
WT at Nadir - g	1180±334	955±303	225	0.001
Age at Nadir - days	4.2±1.6	4.3±1.3	-0.1	0.849
Max WT Loss PCT - %	9±4	12±4	-3	0.005
Time to Regain BW - days	10.2±3.1	12.2±3.9	-1.9	0.014
WT 36W - g	2158±467	2027±365	131	0.112
WT SDS–36W - no.	-1.18±1.14	-1.49±0.89	+0.32	0.114
TL 36W - cm	44.3±3.1	43.3±2.7	+0.9	0.111
TL SDS-36W- no.	-1.25±1.18	-1.60±1.02	+0.35	0.112
HC 36W - cm	31.0±1.8	30.3±1.5	+0.7	0.034
HC SDS-36W - no.	-1.22±1.25	-1.70±1.02	+0.48	0.035
WTGainBW-36W - g/kg/d	16.4±2.7	16.0±2.4	+0.4	0.482
WTGain RegainedBW-36W - g/kg/d	18.0±3.2	17.5±2.8	+0.6	0.342
Cum Fluid BIRTH-36W	6117±1707	8059±2538	-1942	0.000
Cum NPE BIRTH-36W	4181±1254	5431±1711	-1250	0.000

Cum Protein BIRTH-36W	144±46	189±65	-45	0.001
PN Fluid BIRTH-36W	1175±914	1886±1569	-711	0.020
PN NPE BIRTH-36W	500±432	798±712	-298	0.032
PN Protein BIRTH-36W	33±14	46±32	-13	0.106
EN Fluid BIRTH-36W	4942±1372	6173±1888	-1231	0.001
EN NPE BIRTH-36W	3681±1152	4633±1520	-951	0.002
EN Protein BIRTH-36W	124±41	154±52	-30	0.004
WT 3m- g	5646±854	5298±769	+347	0.049
WT SDS-3m- no.	0.34±1.16	-0.13±1.09	+0.46	0.063
TL 3m- cm	59.7±3.0	57.8±2.8	+1.9	0.004
TL SDS-3m- no.	0.19±1.16	-0.56±1.21	+0.75	0.006
HC 3m- cm	39.8±1.6	39.3±1.4	+0.5	0.142
HC SDS-3m- no.	-0.32±1.24	-0.67±1.18	+0.36	0.183

I neonati del gruppo IPO erano significativamente più grandi di età, peso, lunghezza e circonferenza cranica alla nascita rispetto ai NORM. I pazienti IPO sono stati intubati meno nelle prime 24 ore e hanno ricevuto meno trasfusioni dalla nascita a 36 settimane di età post mestruale rispetto a quelli NORM. RDS, PDA e LOS avevano una incidenza più elevata nel gruppo IPO rispetto a quello NORM. I pazienti IPO hanno assunto un numero significativamente inferiore di fluidi, aminoacidi ed energia non proteica dalla nascita a 36 settimane di età post mestruale rispetto alla controparte normoglicemica. La circonferenza cranica a 36 settimane di età corretta, peso e lunghezza a 3 mesi di età corretta era significativamente maggiore nel gruppo IPO rispetto a quello NORM.

Il punteggio cognitivo (COG) e motorio (MOT) del test di Bayley a 3 mesi di età corretta è riportato in *Figura 1*. Nessuna differenza statisticamente significativa di COG e MOT è stata trovata tra i pazienti IPO e NORM.

Figure 1. Confronto dei punteggi COG e MOT a 3 mesi di età corretta tra pazienti IPO e NORM nello studio di coorte.



Un'analisi di caso-controllo è stata eseguita per rimuovere l'effetto delle differenze alla nascita tra IPO e NORM sul neurosviluppo a 3 mesi. Per ogni paziente IPO è stato individuato casualmente tramite software SPSS un paziente NORM con simile età gestazionale (tolleranza: ± 2 giorni) e peso alla nascita (tolleranza: ± 50 grammi). Caratteristiche demografiche, dati prenatali, principali complicanze della prematurità, dati di crescita e nutrizione dalla nascita al 36 settimane di età post mestruale delle 21 coppie IPO-NORM sono riportati in *Tabella 4*.

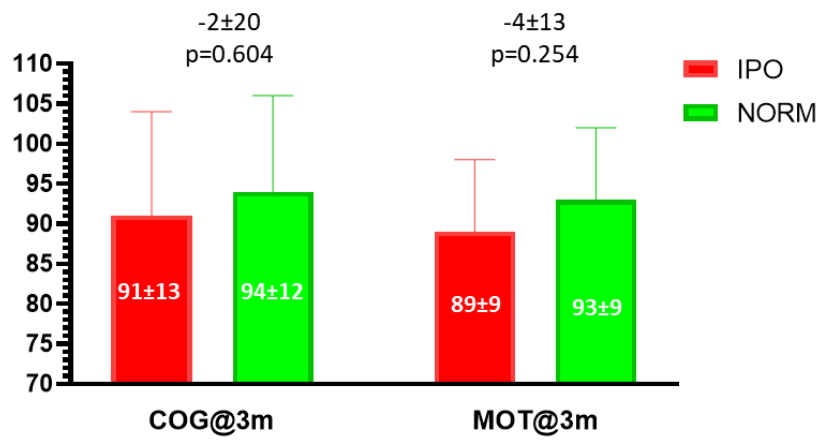
	IPO N=21	NORM N=21	Diff.	p- value
GA - Gestational Age (days)	214±9	213±9	+0±2	0.317
BW – Birth Weight - g	1313±296	1301±305	+12±52	0.290
			-	
BW – SDS	-0.52±0.79	-0.49±0.79	0.03±0.41	0.721
TL.B – Length at Birth - cm	38.8±2.9	39.1±3.7	-0.4±2.3	0.468
			-	
TL.B – SDS	-0.49±0.70	-0.30±0.97	0.19±0.78	0.292
HC.B – Head Circumference - cm	27.3±1.8	27.6±1.8	-0.3±1.1	0.260
HC.B - SDS	-0.42±0.76	-0.14±0.86	0.27±0.69	0.096
10CSGA, n (%)	5 (24%)	3 (14%)	+2 (+10%)	0.250
2SDSGA, n (%)	0 (0%)	1 (5%)	-1 (-5%)	0.500
Males, n (%)	13 (62%)	10 (48%)	+3 (+14%)	0.388

Apgar5min – no.	8.1±1.3	7.9±1.5	+0.2	0.562
Int. 0-24 hrs – no. (%)	12 (40%)	59 (61%)	-47(-21)	0.045
AntenatalCort.Ther.- no.(%)	30 (100%)	88 (91%)	-58(+9)	0.114
CS – no. (%)	19 (86%)	63 (85%)	-44(+1)	1.000
Surfactant – no. (%)	13 (43%)	54 (56%)	-41(-12)	0.237
MV – hours	20 10 74	38 16 163	-19	0.212
CPAP – hours	222 52 838	628 146 1009	-406	0.032
Oxygen duration – hours	140 2 978	171 23 935	-31	0.225
Antibiotics – no. (%)	22 (73%)	82 (85%)	-60(-11)	0.164
Caffeine duration – hours	480 352 923	888 534 1310	-408	0.058
Nitric oxide – no. (%)	1 (3%)	5 (5%)	-4(-2)	1.000
Dopamine – no. (%)	2 (7%)	15 (15%)	-13(-9)	0.357
RBC trasfusion – no. (%)	6 (20%)	42 (43%)	-36(-23)	0.021
RDS+HMD – no. (%)	19 (63%)	87 (90%)	-68(-26)	0.001
EOS – no. (%)	0 (0%)	8 (8%)	-8(-8)	0.197
PDAtot – no. (%)	4 (13%)	42 (43%)	-38(-30)	0.002
ASPHYXIAtot – no. (%)	0 (0%)	3 (3%)	-3(-3)	1.000
LOS Stoll– no. (%)	1 (3%)	18 (19%)	-17(-15)	0.043
LPV II-IV – no. (%)	1 (3%)	3 (3%)	-2(+0)	1.000
NEC II-III – no. (%)	1 (3%)	2 (2%)	-1(+1)	0.558
CHOLESTASIS – no. (%)	2 (7%)	8 (8%)	-6(-2)	1.000
ROP III-V – no. (%)	0 (0%)	1 (1%)	-1(-1)	1.000
BPD – no. (%)	4 (13%)	19 (20%)	-15(-6)	0.590
IVH III-IV – no. (%)	1 (3%)	5 (5%)	-4(-2)	1.000
WT at Nadir - g	1180±334	955±303	225	0.001
Age at Nadir - days	4.2±1.6	4.3±1.3	-0.1	0.849
Max WT Loss PCT - %	9±4	12±4	-3	0.005
Time to Regain BW - days	10.2±3.1	12.2±3.9	-1.9	0.014
WT 36W - g	2158±467	2027±365	131	0.112
WT SDS–36W - no.	-1.18±1.14	-1.49±0.89	+0.32	0.114

TL 36W - cm	44.3±3.1	43.3±2.7	+0.9	0.111
TL SDS-36W- no.	-1.25±1.18	-1.60±1.02	+0.35	0.112
HC 36W - cm	31.0±1.8	30.3±1.5	+0.7	0.034
HC SDS-36W - no.	-1.22±1.25	-1.70±1.02	+0.48	0.035
WTGainBW-36W - g/kg/d	16.4±2.7	16.0±2.4	+0.4	0.482
WTGain RegainedBW-36W - g/kg/d	18.0±3.2	17.5±2.8	+0.6	0.342
Cum Fluid BIRTH-36W	6117±1707	8059±2538	-1942	0.000
Cum NPE BIRTH-36W	4181±1254	5431±1711	-1250	0.000
Cum Protein BIRTH-36W	144±46	189±65	-45	0.001
PN Fluid BIRTH-36W	1175±914	1886±1569	-711	0.020
PN NPE BIRTH-36W	500±432	798±712	-298	0.032
PN Protein BIRTH-36W	33±14	46±32	-13	0.106
EN Fluid BIRTH-36W	4942±1372	6173±1888	-1231	0.001
EN NPE BIRTH-36W	3681±1152	4633±1520	-951	0.002
EN Protein BIRTH-36W	124±41	154±52	-30	0.004
WT 3m- g	5646±854	5298±769	+347	0.049
WT SDS-3m- no.	0.34±1.16	-0.13±1.09	+0.46	0.063
TL 3m- cm	59.7±3.0	57.8±2.8	+1.9	0.004
TL SDS-3m- no.	0.19±1.16	-0.56±1.21	+0.75	0.006
HC 3m- cm	39.8±1.6	39.3±1.4	+0.5	0.142
HC SDS-3m- no.	-0.32±1.24	-0.67±1.18	+0.36	0.183

Come atteso i neonati IPO hanno simili caratteristiche alla nascita dei neonati NORM. I pazienti IPO hanno assunto un numero significativamente inferiore di fluidi, aminoacidi ed energia non proteica dalla nascita a 36 settimane di età post mestruale rispetto alla controparte normoglicemica. Una incidenza maggiore di LOS, RDS e PDA è stata trovata nel gruppo NORM rispetto a quello IPO. Il punteggio cognitivo (COG) e motorio (MOT) del test di Bayley a 3 mesi di età corretta è riportato in *Figura 2*. Nessuna differenza statisticamente significativa di COG e MOT è stata trovata tra i pazienti IPO e NORM dello studio di caso-controllo.

Figure 1. Confronto dei punteggi COG e MOT a 3 mesi di età corretta tra pazienti IPO e NORM nello studio di coorte.



DISCUSSIONE

In questo lavoro di tesi è stata studiata l'associazione tra l'ipoglicemia neonatale nelle prime 6 ore di vita, definita da almeno un valore di glicemia < 40 mg/dL, e il punteggio di cognitivo e motorio valutati con test di Bayely a 3 mesi di età corretta.

Nessuna differenza statisticamente significativa è stata trovata tra i neonati IPO e NORM sia nello studio di coorte che di caso-controllo. L'assenza di associazione tra ipoglicemia e neurosviluppo riscontrata nel nostro studio è stata riportata anche da altri in letteratura come Tin del 2012 e Tottman del 2017 su dati di neurosviluppo più tardivi (12-24 mesi). Tuttavia, altri autori come Lucas et al. del 1988, che ha condotto la stessa valutazione su una popolazione di pretermine con peso neonatale <1850g ha trovato una associazione negativa tra ipoglicemia precoce e neurosviluppo a 18 mesi di età corretta: gli ipoglicemici avevano 14 e 13 punti di punteggio cognitivo e motorio in meno rispetto ai normoglicemici.

I risultati ottenuti nel nostro studio sono rassicuranti e suggeriscono che uno o più episodi di ipoglicemia <40 mg/dL nelle prime 6 ore di vita non influenzano significativamente il neurosviluppo in un contesto come il reparto di Neonatologia di Ancona e qualsiasi altro reparto di neonatologia che al momento della nascita del neonato pretermine provveda tempestivamente alla somministrazione di glucosio intravenoso. Risultati preliminari del gruppo di ricerca di Neonatologia di Ancona indicano che l'ipoglicemia non è associata ad uno scarso neurosviluppo neanche a 24 mesi di età corretta a supporto di quanto trovato in questo studio di tesi.

Questo studio non esclude la possibilità che l'utilizzo di un valore di ipoglicemia più basso (es. <20 mg/dL) possa portare a risultati diversi. Tuttavia, il valore soglia per la definizione di ipoglicemia utilizzato in questo studio è quello attualmente riportato dalle attuali linee guida europee pediatriche. I pazienti che hanno avuto una ipoglicemia tardiva nel corso di ricovero non sono stati esclusi e questo rappresenta una potenziale limitazione dello studio in quanto potrebbe aver portato ad una sottostima dei punteggi di neurosviluppo nei pazienti normoglicemici.

In conclusione, questa tesi descrive l'associazione tra ipoglicemia nelle prime 6 ore di vita e neurosviluppo a 3 mesi di età corretta in una ampia coorte di neonati pretermine con età gestazionale <32 settimane. I risultati indicano che in un contesto ospedaliero in cui è in essere un protocollo di somministrazione di glucosio che prevede la somministrazione di glucosio entro le prime ore di vita, eventuali episodi di ipoglicemia non comportano deficit significativi di neurosviluppo.

BIBLIOGRAFIA

- De Angelis LC, Brigati G, Polleri G, et al. Neonatal Hypoglycemia and Brain Vulnerability. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(March):1-12. doi:10.3389/fendo.2021.634305
- Vain NE, Chiarelli F. Neonatal Hypoglycaemia: A Never-Ending Story? *Neonatology*. 2021;1426. doi:10.1159/000514711
- Michelsen TM, Holme AM, Holm MB, et al. Uteroplacental Glucose Uptake and Fetal Glucose Consumption: A Quantitative Study in Human Pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(3):873-882. doi:10.1210/JC.2018-01154
- Mitanchez D. Glucose regulation in preterm newborn infants. *Horm Res*. 2007;68(6):265-271. doi:10.1159/000104174
- P Mena, A Llanos, R Uauy. Insulin homeostasis in the extremely low birth weight infant. *Semin Perinatol*. 2001;25(6):436-446. doi:10.1053/SPER.2001.30349
- Hawdon JM, Ward Platt MP, Aynsley-Green A, Hawdon M P Ward Platt A Aynsley-Green JM. Patterns of metabolic adaptation for preterm and term infants in the first neonatal week The newborn infant at birth must adapt from the environment. *Arch ofDisease Child*. 1992;67(October 1991):357-365.
- D M-M, N L, F K, JF M, M R, M V. Both relative insulin resistance and defective islet beta-cell processing of proinsulin are responsible for transient hyperglycemia in extremely preterm infants. *Pediatrics*. 2004;113(3 Pt 1):537-541. doi:10.1542/PEDS.113.3.537
- Jackson L, Burchell A, McGeechan A, Hume R. An inadequate glycaemic response to glucagon is linked to insulin resistance in preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2003;88(1). doi:10.1136/FN.88.1.F62
- Chacko SK, Sunehag AL. Gluconeogenesis continues in premature infants receiving total parenteral nutrition. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2010;95(6). doi:10.1136/ADC.2009.178020
- Chacko SK, Ordonez J, Sauer PJJ, Sunehag AL. Gluconeogenesis is not regulated by either glucose or insulin in extremely low birth weight infants receiving total parenteral nutrition. *J Pediatr*. 2011;158(6):891-896. doi:10.1016/J.JPEDS.2010.12.040
- Van Kempen AA, Romijn JA, Ruiten AF, et al. Adaptation of glucose production and gluconeogenesis to diminishing glucose infusion in preterm infants at varying gestational ages. *Pediatr Res*. 2003;53(4):628-634. doi:10.1203/01.PDR.0000054733.13366.AF
- Hume R, Burchell A. Abnormal expression of glucose-6-phosphatase in preterm infants. *Arch Dis Child*. 1993;68(2):202-204. doi:10.1136/ADC.68.2.202
- Kalhan SC, Parimi P, Van Beek R, et al. Estimation of gluconeogenesis in newborn infants. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;281(5). doi:10.1152/AJPENDO.2001.281.5.E991

Jackson L, Williams FL, Burchell A, Coughtrie MW, Hume R. Plasma catecholamines and the counterregulatory responses to hypoglycemia in infants: a critical role for epinephrine and cortisol. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(12):6251-6256. doi:10.1210/JC.2004-0550

Mesotten D, Joosten K, van Kempen A, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Carbohydrates. *Clin Nutr.* 2018;37(6):2337-2343. doi:10.1016/j.clnu.2018.06.947

Bier DM, Leake RD, Haymond MW, et al. Measurement of "true" glucose production rates in infancy and childhood with 6,6-dideuteroglucose. *Diabetes.* 1977;26(11):1016-1023. doi:10.2337/DIAB.26.11.1016

Vannucci RC. *Cerebral Carbohydrate and Energy Metabolism in Perinatal Hypoxic-Ischemic Brain Damage.* Vol 2.; 1992.

Devraj Kavi, Klinger Marianne E., Myers Roland L., Mokashi Ashwini, Hawkins Richard A., Simpson Ian A. GLUT-1 GLUCOSE TRANSPORTERS IN THE BLOOD-BRAIN BARRIER: DIFFERENTIAL PHOSPHORYLATION. *J Neurosci Res.* 2011;89(12):1913-1925. doi:10.1002/JNR.22738

Powers WJ, Rosenbaum JL, Dence CS, Markham J, Videen TO. Cerebral glucose transport and metabolism in preterm human infants. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1998;18(6):632-638. doi:10.1097/00004647-199806000-00005

Nehlig A, Pereira de Vasconcelos A. Glucose and ketone body utilization by the brain of neonatal rats. *Prog Neurobiol.* 1993;40(2):163-220. doi:10.1016/0301-0082(93)90022-K

Adam PA, Rähä N, Rahiala EL, Kekomäki M. Oxidation of glucose and D-B-OH-butyrate by the early human fetal brain. *Acta Paediatr Scand.* 1975;64(1):17-24. doi:10.1111/J.1651-2227.1975.TB04375.X

Hawdon JM. Definition of neonatal hypoglycaemia: time for a rethink? doi:10.1136/archdischild-2012-303422

Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends Neurosci.* 2013;36(10):587-597. doi:10.1016/J.TINS.2013.07.001

Suh SW, Hamby AM SR. Hypoglycemia, Brain Energetics, and Hypoglycemic Neuronal Death. *Glia.* 2007;55(September):1280-1286. doi:10.1002/glia

Dunn-Meynell AA, Routh VH, Kang L, Gaspers L, Levin BE. Glucokinase is the likely mediator of glucosensing in both glucose-excited and glucose-inhibited central neurons. *Diabetes.* 2002;51(7):2056-2065. doi:10.2337/diabetes.51.7.2056

Alvarsson A, Stanley SA. Remote control of glucose-sensing neurons to analyze glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2018;315:327-339. doi:10.1152/ajpendo.00469.2017.-The

Fioramonti X, Chrétien C, Leloup C, Pénicaud L. Recent Advances in the Cellular and Molecular Mechanisms of Hypothalamic Neuronal Glucose Detection. *Front Physiol.* 2017;8(NOV). doi:10.3389/FPHYS.2017.00875

Gordon GRJ, Choi HB, Ellis-Davies GCR, MacVicar BA. Brain metabolic state dictates the polarity of astrocyte control over the cerebrovasculature. *Nature.* 2008;456(7223):745. doi:10.1038/NATURE07525

Shah R, Harding J, Brown J, Mckinlay C. Neonatal Glycaemia and Neurodevelopmental Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neonatology.* 2019;115(2):116-126. doi:10.1159/000492859

Thornton PS, Stanley CA, De Leon DD, et al. Recommendations from the Pediatric Endocrine Society for Evaluation and Management of Persistent Hypoglycemia in Neonates, Infants, and Children. *J Pediatr*. 2015;167(2):238-245. doi:10.1016/J.JPEDI.2015.03.057

Thompson-Branch A, Havranek T. Neonatal Hypoglycemia. *Pediatr Rev*. 2017;38(4):147-157. doi:10.1542/PIR.2016-0063

Adamkin DH. Postnatal glucose homeostasis in late-preterm and term infants. *Pediatrics*. 2011;127(3):575-579. doi:10.1542/PEDS.2010-3851

Hawdon JM. Identification and Management of Neonatal Hypoglycemia in the Full-Term Infant. *British Association of Perinatal Medicine Framework for Practice, 2017*. *J Hum Lact*. 2019;35(3):521-523. doi:10.1177/0890334419846128

Narvey MR, Marks SD. The screening and management of newborns at risk for low blood glucose. *Paediatr Child Health*. 2019;24(8):536. doi:10.1093/PCH/PXZ134

Wackernagel D, Gustafsson A, Edstedt Bonamy AK, et al. Swedish national guideline for prevention and treatment of neonatal hypoglycaemia in newborn infants with gestational age ≥ 35 weeks. *Acta Paediatr*. 2020;109(1):31-44. doi:10.1111/APA.14955

Stark J, Simma B, Blassnig-Ezeh A. Incidence of hypoglycemia in newborn infants identified as at risk. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2020;33(18):3091-3096. doi:10.1080/14767058.2019.1568985

Harris DL, Weston PJ, Harding JE. Incidence of neonatal hypoglycemia in babies identified as at risk. *J Pediatr*. 2012;161(5):787-791. doi:10.1016/j.jpeds.2012.05.022

Mitchell NA, Grimbly C, Rosolowsky ET, et al. Incidence and Risk Factors for Hypoglycemia During Fetal-to-Neonatal Transition in Premature Infants. *Front Pediatr*. 2020;8. doi:10.3389/FPED.2020.00034

Beardsall K. Measurement of glucose levels in the newborn. *Early Hum Dev*. 2010;86(5):263-267. doi:10.1016/j.earhumdev.2010.05.005

Woo HC, Tolosa L, El-Metwally D, Viscardi RM. Glucose monitoring in neonates: Need for accurate and non-invasive methods. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014;99(2):153-158. doi:10.1136/archdischild-2013-304682

Harris DL, Battin MR, Weston PJ, Harding JE. Continuous glucose monitoring in newborn babies at risk of hypoglycemia. *J Pediatr*. 2010;157(2):198-202.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2010.02.003

Galderisi A, Facchinetti A, Steil GM, et al. Continuous glucose monitoring in very preterm infants: A randomized controlled trial. *Pediatrics*. 2017;140(4). doi:10.1542/peds.2017-1162

Skov L, Pryds O. Capillary recruitment for preservation of cerebral glucose influx in hypoglycemic, preterm newborns: Evidence for a glucose sensor? *Pediatrics*. 1992;90(2):193-195.

Aral ZY, Gucuyener K, Atalay Y. Role of excitatory aminoacids in neonatal hypoglycemia. *Acta Paediatr Jpn*. 40:303-306.

Suh SW, Gum ET, Hamby AM, Chan PH, Swanson RA. Hypoglycemic neuronal death is triggered by glucose reperfusion and activation of neuronal NADPH oxidase. *J Clin Invest.* 2007;117(4):910-918. doi:10.1172/JCI30077

Anderson JM, Milner RD, Strich SJ. Effects of neonatal hypoglycaemia on the nervous system: a pathological study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1967;30(4):295-310. doi:10.1136/JNNP.30.4.295

Gataullina S, De Lonlay | Pascale, Georges |, Boddaert N. Topography of brain damage in metabolic hypoglycaemia is determined by age at which hypoglycaemia occurred. doi:10.1111/dmcr.12045

Gu MH, Amanda F, Yuan TM. Brain Injury in Neonatal Hypoglycemia: A Hospital-Based Cohort Study. *Clin Med Insights Pediatr.* 2019;13:117955651986795. doi:10.1177/1179556519867953

Burns CM, Rutherford MA, Boardman JP, Cowan FM. Patterns of Cerebral Injury and Neurodevelopmental Outcomes After Symptomatic Neonatal Hypoglycemia. *Pediatrics.* 2008;122(1):65-74. doi:10.1542/PEDS.2007-2822

Tam EWY, Haeusslein LA, Bonifacio SL, et al. Hypoglycemia is associated with increased risk for brain injury and adverse neurodevelopmental outcome in neonates at risk for encephalopathy. *J Pediatr.* 2012;161(1):88-93. doi:10.1016/j.jpeds.2011.12.047

Abramowski A, Ward R, Hamdan AH. Neonatal Hypoglycemia - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725790/>. Accessed October 15, 2021.

Lucas A, Morley R, Cole TJ. Adverse neurodevelopmental outcome of moderate neonatal hypoglycaemia. *BMJ.* 1988;297(6659):1304-1308. doi:10.1136/BMJ.297.6659.1304

Brand PLP, Molenaar NLD, Kaaijk C, Wierenga WS. Neurodevelopmental outcome of hypoglycaemia in healthy, large for gestational age, term newborns. *Arch Dis Child.* 2005;90(1):78-81. doi:10.1136/adc.2003.039412

Boluyt N, Van Kempen A, Offringa M. Neurodevelopment after neonatal hypoglycemia: A systematic review and design of an optimal future study. *Pediatrics.* 2006;117(6):2231-2243. doi:10.1542/peds.2005-1919

Tin W, Brunskill G, Kelly T, Fritz S. 15-Year follow-up of recurrent "hypoglycemia" in preterm infants. *Pediatrics.* 2012;130(6). doi:10.1542/peds.2012-0776

McKinlay CJD, Alsweiler JM, Anstice NS, et al. Association of neonatal glycemia with neurodevelopmental outcomes at 4.5 years. *JAMA Pediatr.* 2017;171(10):972-983. doi:10.1001/jamapediatrics.2017.1579

McKinlay CJ, Alsweiler JM, Ansell JM, et al. Neonatal Glycemia and Neurodevelopmental Outcomes at 2 Years. *N Engl J Med.* 2015;373(16):1507-1518. doi:10.1056/NEJMOA1504909

Tottman AC, Alsweiler JM, Bloomfield FH, Pan M, Harding JE. Relationship between Measures of Neonatal Glycemia, Neonatal Illness, and 2-Year Outcomes in Very Preterm Infants. *J Pediatr.* 2017;188:115-121. doi:10.1016/j.jpeds.2017.05.052

Duvanel CB, Fawer CL, Colling J, Hohlfeld P, Matthieu JM. Long-term effects of neonatal hypoglycemia on brain growth and psychomotor development in small-for-gestational-age preterm infants. *J Pediatr.* 1999;134(4):492-498. doi:10.1016/S0022-3476(99)70209-X

Kaiser JR, Bai S, Gibson N, et al. Association between transient newborn hypoglycemia and fourth-grade achievement test proficiency: A population-based study. *JAMA Pediatr.* 2015;169(10):913-921. doi:10.1001/jamapediatrics.2015.1631

Goode RH, Rettiganti M, Li J, et al. Developmental outcomes of preterm infants with neonatal hypoglycemia. *Pediatrics.* 2016;138(6). doi:10.1542/peds.2016-1424

Sharma D, Sharma P, Shastri S. Golden 60 minutes of newborn's life: Part 2: Term neonate. *J Matern Neonatal Med.* 2017;30(22):2728-2733. doi:10.1080/14767058.2016.1261399

Wight N, Marinelli KA. ABM Clinical Protocol #1: Guidelines for Blood Glucose Monitoring and Treatment of Hypoglycemia in Term and Late-Preterm Neonates, Revised 2014. *Breastfeed Med.* 2014;9(4):173-179. doi:10.1089/bfm.2014.9986

Weston PJ, Harris DL, Harding JE. Dextrose gel treatment does not impair subsequent feeding. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2017;102(6):F539-F541. doi:10.1136/archdischild-2017-312772

Castrodale V, Rinehart S. The golden hour: improving the stabilization of the very low birth-weight infant. *Adv Neonatal Care.* 2014;14(1):21. doi:10.1097/ANC.0B013E31828D0289

Croop SEW, Thoyre SM, Aliaga S, McCaffrey MJ, Peter-Wohl S. The Golden Hour: a quality improvement initiative for extremely premature infants in the neonatal intensive care unit. *J Perinatol.* 2020;40(3):530-539. doi:10.1038/s41372-019-0545-0

De Carolis MP, Casella G, Serafino E, Pinna G, Cocca C, De Carolis S. Delivery room interventions to improve the stabilization of extremely-low-birth-weight infants. *J Matern Neonatal Med.* 2021;34(12):1925-1931. doi:10.1080/14767058.2019.1651278

Bayley-III | Giunti Psychometrics. <https://www.giuntipsy.it/catalogo/test/bayley-iii>. Accessed October 6, 2021.

Gnanendran L, Bajuk B, Oei J, et al. Neurodevelopmental outcomes of preterm singletons, twins and higher-order gestations: A population-based cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2015;100(2):F106-F114. doi:10.1136/archdischild-2013-305677

Hentges CR, Silveira RC, Procianoy RS, et al. Association of late-onset neonatal sepsis with late neurodevelopment in the first two years of life of preterm infants with very low birth weight. *J Pediatr (Rio J).* 2014;90(1):50-57. doi:10.1016/j.jped.2013.10.002

DeMauro SB. Neurodevelopmental outcomes of infants with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol.* 2021;(February):1-9. doi:10.1002/ppul.25381

Sacchi C, Marino C, Nosarti C, Vieno A, Visentin S, Simonelli A. Association of intrauterine growth restriction and small for gestational age status with childhood cognitive outcomes: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2020;174(8):772-781. doi:10.1001/jamapediatrics.2020.1097

Lugli L., Bedetti L., Guidotti I., et al. Neuroprem 2: An Italian Study of Neurodevelopmental Outcomes of Very Low Birth Weight Infants. *Front Pediatr.* 2021;9:697100. doi:10.3389/FPED.2021.697100

Arulkumaran S, Tusor N, Chew A, Falconer S, Kennea N, Edwards AD. MRI Findings at Term-Corrected Age and Neurodevelopmental Outcomes in a Large Cohort of Very Preterm Infants. AJNR Am J Neuroradiol. 2020;41(8):1509-1516. doi:10.3174/AJNR.A6666

Burakevych N, Mckinlay CJ, Alsweiler JM, Wouldes TA, Harding JE. Bayley-III motor scale and neurological examination at 2 years do not predict motor skills at 4.5 years. Dev Med Child Neurol. 2017;59(2):216-223. doi:10.1111/DMCN.13232