



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Facoltà di Medicina e Chirurgia
Dipartimento di Pediatria

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN
MEDICINA DELLO SVILUPPO E SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE
INDIRIZZO DI GENETICA BIOCHIMICA E MOLECOLARE

XXI CICLO

**LA PERCEZIONE DEL DOLORE NEL BAMBINO EX
PRETERMINE
STUDIO SULL'INDUZIONE SPERIMENTALE DI UNO STIMOLO
DOLOROSO TRAMITE COLD PRESSOR TEST**

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

Coordinatore: Dott. Maurizio Scarpa

Supervisore : Dott.ssa Chiara Cattelan

Dottorando: Giorgio Pozziani

RIASSUNTO

Ipotesi di studio

Diversi studi su cavie suggeriscono che esperienze dolorose in epoca neonatale inducano alterazioni a lungo termine della sensibilità al dolore; ad oggi, tuttavia, esistono solo due recenti studi sperimentale condotto sull'uomo (Hermann et al., 2006; Walker S. et al., 2009). La popolazione dei bambini che nascono entro le 37 settimane di età gestazionale è, senza dubbio, quella che più di tutte subisce procedure dolorose e invasive nei primi giorni di vita. La letteratura teorizza che, in linea con i riscontri rilevati sulla specie animale, questi neonati abbiano una soglia più bassa e una minor tolleranza allo stimolo algico, che quindi verrebbe percepito più intensamente, andando ad influenzare la maturazione del Sistema Nervoso con conseguenze sia a breve che a lungo termine.

Scopo dello studio

Il presente studio intende valutare la percezione del dolore, usando un metodo di stimolazione sperimentalmente controllato (Cold Pressor Test), in una popolazione di bambini di 10 anni nati prematuri (n.89) versus bambini di controllo (n.57). Obiettivo secondario è analizzare se i principali outcome di percezione del dolore (latenza di soglia e tolleranza) siano associati a variabili neonatali (sesso, età gestazionale, peso alla nascita, tipo di parto, gemellarità, punteggio di Apgar) nei due gruppi studiati o, nel caso dei prematuri, a variabili perinatali (manovre invasive e interventi chirurgici subiti, durata del primo ricovero, terapia farmacologica, etc).

Materiali e metodi

Sono stati confrontati bambini ex prematuri (età gestazionale \leq 37 settimane) e bambini di controllo) valutando le latenze di percezione del dolore di età pari a 10 anni. Lo

stimolo dolorifico è stato indotto tramite il Cold Pressor Test, chiedendo al bambino di immergere il braccio non dominante in una vasca d'acqua mantenuta a 10°C, sino al raggiungimento della soglia e della tolleranza al dolore. La durata massima della stimolazione nocicettiva era di 3 minuti. Successivamente, è stata condotta un'analisi retrospettiva delle variabili neonatali considerate, per verificare la loro eventuale influenza sulla percezione del dolore.

Risultati

Dal confronto delle latenze, è emerso che i bambini ex pretermine si differenziano, rispetto ai bambini di controllo, per tempi di soglia allo stimolo algico, che risultano essere mediamente più lunghi. I tempi di tolleranza nei due gruppi sono sovrapponibili. Suddividendo il gruppo dei prematuri in base al percentile di appartenenza alla nascita (e.g.*peso) si osserva che i valori di tolleranza assumono un andamento ad 'U': più lunghi per i bambini nati con peso al di sotto del 10° percentile, più brevi per i bambini nati con peso compreso tra il 10° e il 25° percentile.

Analizzando il solo gruppo dei pretermine, al diminuire dell'e.g. e all'aumentare del numero di procedure invasive si associano tempi di soglia maggiori. Gli altri indici di rischio correlano con l'e.g.

Conclusioni

La percezione del dolore (soglia e tolleranza) indotto da uno stimolo termico è alterata nei bambini di 10 anni in relazione all'e.g. di nascita. Tale dispercezione può essere espressa in termini di aumentata o ridotta soglia e tolleranza allo stimolo doloroso (come intuito anche da Fitzgerald, 2006). La classe meno sensibile al dolore risulta essere quella dei prematuri con peso alla nascita compreso entro il 10° percentile, mentre la classe più sensibile sembrerebbe quella dei bambini il cui peso alla nascita cade tra il 10°

e il 25° percentile, forse perchè più suscettibili all'insulto dolorifico neonatale che induce cambiamenti, persistenti oltre l'infanzia, nel funzionamento delle vie di percezione del dolore.

PAIN PERCEPTION IN EX PRETERM CHILDREN

A STUDY ON AN EXPERIMENTAL INDUCED

PAIN STIMULUS WITH COLD PRESSOR TEST

Abstract

Background

Animal studies suggest that painful experiences in postnatal period induce long-term alterations in pain sensitivity, there are just two recent study performed on man till now (Hermann et al., 2006). Preterm neonates (born within 37 weeks of gestational age) undergo many painful and invasive procedures in the early postnatal period. Many authors hypothesize that these neonates have a lower threshold and tolerance to algetic stimulus influencing maturation of the Nervous System with short- and long-term consequences.

Aim of the study

The present study aims to demonstrate the presence of pain perception alteration in a 10-years old ex preterm children population. We have also analysed if there was any connection between these alterations and neonatal variables (such as gender, gestational age, birthweight, type of delivery, twinship, Apgar score) or perinatal variables (such as therapy, invasive procedures, surgery, duration of the first admission and other admissions).

Materials and method

First we compared times to threshold and tolerance to a painful stimulus induced with Cold Pressor Test in two different groups of children (89 ex preterm vs 57 fullterm

infants). Secondly, we made a retrospective analysis of neonatal variables in the preterm group.

Results

The latency of threshold to algetic stimulus was on average longer in the preterm group than the control group, whatever tolerance was superimposable. The risk indexes considered in the preterm group (Apgar score, first admission duration, Snap II and Snappe II scores, procedures number and number of following admissions) were worsened by the decreasing gestational age; the increasing number of invasive procedures was associated with a longer latency of threshold.

We assigned all the children tested to different classes based on birth percentile and we observed that the threshold trend is more influenced by belonging to a certain group, whereas tolerance showed a U-shaped trend strictly connected with the percentile. In particular, we evidenced lower tolerance times in children whose birthweight was placed between 10th and 25th percentile.

Conclusions

An induced by a termic stimulus pain's perception (threshold and tolerance) results altered in ten-years-old children in relation to their gestational age. Such an altered perception can be expressed as a higher or lower threshold and tolerance to the painful stimulus (Fitzgerald, 2006). The preterm infants' class whose children's birthweight is inferior to the 10° percentile is the less sensitive one to the painful stimulus. The most sensitive one includes infants whose birthweight is between 10° and 25° percentile, maybe because of their higher susceptibility to painful neonatal insult which induces persistent changes of their pain's perception.

INDICE

1 INTRODUZIONE.....	pag 11
2 IL SISTEMA NOCICETTIVO.....	pag 15
2.1 Definizione di dolore.....	pag 15
2.2 Anatomia e fisiologia del dolore.....	pag 16
2.3 La trasduzione.....	pag 17
2.4 La trasmissione.....	pag 17
2.5 La modulazione.....	pag 20
2.6 La percezione.....	pag 22
3 IL NEONATO PRETERMINE.....	pag 25
3.1 Conseguenze della prematurita' sugli aspetti cognitivo-comportamentali e sui sistemi di trasmissione del dolore.....	pag 31
4 LA RICERCA SPERIMENTALE SUL DOLORE IN AMBITO PEDIATRICO.....	pag 35
5 SCOPO DELLO STUDIO.....	pag 39
6 MATERIALI E METODI.....	pag 41
6.1 Reclutamento e costruzione del campione sperimentale e del campione di controllo.....	pag 41
6.2 Strumentazione e materiali.....	pag 45
6.3 Procedura.....	pag 51
6.4 Misure di outcome.....	pag 55
6.5 Influenza delle caratteristiche dei soggetti e dell'ambiente.....	pag 58
6.6 Piano di analisi.....	pag 58
6.7 Numerosità del campione.....	pag 62
7 RISULTATI.....	pag 63
7.1 Popolazione.....	pag 63
7.1.1. Setting.....	pag 64
7.2 Percezione del dolore nei due gruppi.....	pag 66

7.2.1 Percezione del dolore: confronto intergruppi.....	pag 67
7.3 Analisi delle variabili neonatali nei bambini ex pretermine.....	pag 68
7.4 Analisi delle variabili neonatali: confronto intergruppi.....	pag 71
7.4.1 Variabile considerata: età gestazionale.....	pag 71
7.4.2 Variabile considerata: peso alla nascita.....	pag 73
7.4.3 Variabile considerata: percentile per peso alla nascita.....	pag 75
7.5 Percezione del dolore e variabili neonatali: confronto intragruppi per sesso.....	pag 78
7.6. Analisi delle variabili emodinamiche: confronto inter e intra gruppi.....	pag 80
7.7 Analisi delle variabili psicologiche: confronto inter e intra gruppi.....	pag 88
8 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	pag 91
9 APPENDICI	pag 99
Bibliografia.....	pag 103

1 INTRODUZIONE

Il filo conduttore di questo lavoro è il tema del dolore in ambito pediatrico: quando ci si riferisce ai periodi più precoci di vita degli individui è più corretto parlare di sistema nocicettivo, poiché l'esperienza dolorosa comporta componenti emozionali che rimandano a livelli di consapevolezza acquisibili solo con la maturazione psichica della personalità; tuttavia, per adeguarci alla letteratura e per praticità espositiva, i due termini saranno utilizzati in modo indistinto.

Il dolore in ambito pediatrico è oggetto, ormai da più di vent'anni, di un numero sempre maggiore di studi volti a esplorare, descrivere e spiegare i meccanismi sottostanti alla sua percezione e al suo controllo.

Le prime ipotesi su reazioni osservabili nel feto a stimolazioni nocicettive datano alla seconda metà del secolo scorso, come nel caso delle reazioni fetali a stimolazione nocicettiva esercitata sulla pelle delle gestanti (Humphrey, 1964).

Tuttavia, la difficoltà a oggettivare e quindi misurare un evento soggettivo come il dolore, associata all'errata presunzione che le esperienze nocicettive in età precoce non lascino traccia, ha fatto sì che il feto e il neonato siano stati ritenuti incapaci di percepire dolore per buona parte del ventesimo secolo (Anand K.J.S., 1987).

Da un punto di vista clinico è alla denuncia di Eland e Anderson (1977), contro il ridotto utilizzo di analgesici nelle cure pediatriche, che si deve in una certa il fiorire di un ampio ventaglio di studi sull'utilità, e soprattutto sul drammatico sottoutilizzo, delle terapie antalgiche in pediatria rispetto alla clinica dell'adulto (Schechter, Berde, Yaster, 2003). Da un punto di vista sperimentale, si deve ad Anand il merito di aver confermato

le intuizioni di Humphrey, attraverso studi neurofisiologici che hanno mostrato come la densità delle terminazioni nervose nocicettive nella cute del feto e del neonato sia simile, se non superiore, a quella dell'adulto (Anand K.J.S. et al.,1989).

Sebbene negli anni Ottanta del secolo scorso, numerosi studi evidenziassero le reazioni cliniche di stress nei neonati (stimolo al rilascio di ormoni, alterazioni della frequenza cardiaca, della pressione arteriosa, della saturazione d'ossigeno) a seguito di manovre invasive, come l'aspirazione tracheo-bronchiale, l'intubazione, la circoncisione o prelievi dal tallone nei prematuri (Anand, 1990), è stato necessario ancora del tempo prima di dare il giusto rilievo alla tematica del dolore pediatrico (Anand et al., 1993b; Fitzgerald et al., 1993) e in particolare alle conseguenze a breve e a lungo termine di una esperienza dolorosa nell'infanzia non adeguatamente trattata.

Oggi sappiamo che alla 23esima settimana di età gestazionale il sistema nocicettivo è già anatomicamente completo e funzionante (Fitzgerald 2004, 1993). Ne consegue che il bambino, fin dalla nascita, è in grado di percepire diversi tipi di dolore, esattamente come l'individuo adulto, ed è quindi necessario che chi si occupa di lui da un punto di vista medico-clinico la dimensione del dolore dei suoi eventuali stati di malattia e delle manovre per gestirli, al fine di evitare ulteriori effetti avversi sul decorso della malattia stessa e sull'evoluzione globale futura dell'individuo (Pokela 1994; Goldschneider & Anand, 2003). Peraltro la sensibilità agli stimoli dolorosi risulta inversamente proporzionale all'età del bambino, in conseguenza dell'imaturità strutturale, e quindi della scarsa efficacia funzionale, dei sistemi inibitori centrali e periferici (Fitzgerald & Beggs 2001; Fitzgerald et al. 1988; Anand et al., 1987).

Si può quindi affermare che oggi è ormai unanimemente riconosciuto lo sviluppo nel bambino, già durante la vita intrauterina, di un sistema nocicettivo che funziona in

modo attivo e via più integrato. Inoltre, come nell'adulto, anche nel bambino la percezione del dolore non è semplicemente proporzionale all'entità o al tipo di danno fisico subito, ma è il risultato di una complessa interazione tra fattori sensoriali, affettivi e cognitivi (Melzack & Wall, 1965). E' noto come anche fattori psicologici giochino un ruolo fondamentale nel modulare la ricettività agli stimoli dolorosi, essendo in grado di inibire o esacerbare in modo importante le componenti affettive ma anche sensoriali del dolore.

Restano ancora molti aspetti da indagare per chiarire le modalità d'azione, inibitoria o potenziante, delle variabili psicofisiche sui meccanismi di trasmissione del dolore.

Da quanto sin qui esposto si rileva come, a fronte delle sempre migliori cure offerte ai bambini che nascono pretermine, rimangano ancora aperti molti interrogativi sulle conseguenze a lungo termine sulla percezione a seguito dell'esperienza di ospedalizzazione alla nascita. Il presente lavoro, in linea con la letteratura recente (Hermann C. et al., 2006; Walker S.M. et al., 2006), si propone di indagare, attraverso l'uso del Cold Pressor Test, le conseguenze a lungo termine nella percezione del dolore in gruppo sperimentale di bambini ex pretermine confrontato con un gruppo di controllo di bambini nati a termine.

Capitolo 2: IL SISTEMA NOCICETTIVO

2.1 Definizione di dolore

Il dolore è un'esperienza soggettiva multifattoriale e spiacevole, della quale è possibile descrivere almeno tre dimensioni generali (Melzack R. e Casey K.L., 1968):

- sensoriale-discriminativa: identificazione, localizzazione e valutazione dello stimolo doloroso nelle sue caratteristiche fisiche;
- motivazionale-affettiva: attribuzione di tonalità affettiva sgradevole allo stimolo e spinta motivazionale di attivazione il sistema motorio (atteggiamenti antalgici o reazioni di allontanamento e di fuga) in associazione ai riflessi autonomici spinali (ventilazione, circolazione, fenomeni neuroendocrini);
- cognitivo-valutativa: elaborazione dello stimolo in termini di memorizzazione, comparazione con altre esperienze, astrazione e interpretazione di significati soggettivi.

L'International Association for the Study of Pain (IASP) ha definito il dolore come *“un'esperienza sensoriale ed emozionale spiacevole associata ad un danno tissutale effettivo o potenziale o descritta in termini di tale danno”* (Merskey & Bogduk 1994). Il dolore è prima di tutto un'esperienza soggettiva, che può interessare una o più parti del corpo insieme, e a causa della sua spiacevolezza viene solitamente descritta in termini di esperienza emozionale. Per quanto il dolore sia generalmente associato a danni tissutali, la sua percezione può avvenire anche in loro assenza o senza che sia individuabile una causa patofisiologica. Inoltre, poichè la descrizione dell'esperienza del dolore dipende valutazioni soggettive, non appare possibile distinguere in modo nitido i fattori causali, quelli organici da quelli intrapsichici, dell'esperienza nocicettiva. Ciò significa che,

anche nel caso in cui non si riscontri alcun segno obiettivo di danno come causa della sintomatologia clinica, non è possibile disconoscere la presenza del dolore.

Questi sono i presupposti che hanno condotto clinici e ricercatori a negare il rapporto di necessaria causalità tra dolore e stimolo che lo ha provocato.

Secondo i criteri IASP si distingue il dolore acuto, ad esordio recente e di durata limitata, dal dolore cronico, che persiste per più di tre mesi in età pediatrica, e per più di sei mesi in età adulta e, comunque, oltre il normale tempo di guarigione dall'eventuale patologia organica di base.

2.2 Anatomia e fisiologia del dolore

Dal punto di vista funzionale, l'esperienza del dolore è il risultato di quattro principali processi: la trasduzione, la trasmissione, la modulazione, la percezione.

Uno stimolo nocivo applicato a livello della cute o dei tessuti sotto-cutanei attiva i nocicettori, terminazioni periferiche dei neuroni sensitivi primari, il cui corpo è collocato a livello dei gangli della radice posteriore del midollo spinale e ganglio del trigemino. A differenza dei recettori somatici, i nocicettori esistono come terminazioni nervose libere, senza strutture periferiche che permettano di tradurre e filtrare lo stimolo. In base alle diverse modalità di stimolazione cui sono deputati, essi si suddividono in:

- (a) *nocicettori termici e meccanici*, di piccolo diametro (2-5 μm), che convogliano lo stimolo alle fibre mielinizzate A δ , la cui velocità di conduzione è di circa 5-30 m/sec.;

(b) *nocicettori polimodali* attivati da una serie di stimoli diversi: termici (i.e. caldo > 45°C e freddo), chimici, meccanici ad alta intensità, che convogliano gli stimoli alle fibre di piccolo diametro (0.4-1.2 μm) amieliniche a conduzione lenta, dette fibre C.

2.3 La trasduzione

Lo stimolo nocivo attiva i nocicettori tramite depolarizzazione di membrana delle terminazioni nervose. I meccanismi tramite cui stimolazioni diverse depolarizzano la membrana delle terminazioni nervose, evocando il potenziale d'azione, non sono a tutt'oggi chiari.

La stimolazione dei nocicettori dopo insulto o infiammazione avviene per rilascio di varie sostanze chimiche, di origine cellulare diversa (peptidiche o neurotrasmettitorie), che agiscono da mediatori dello stimolo nocicettivo (potassio, serotonina, bradichinine, istamina, sostanza P, prostaglandine, leucotrieni). La bradichinina è il principale agente liberato in seguito a danno tissutale, ed attiva sia le fibre A δ che le fibre C, oltre ad aumentare la sintesi e il rilascio locale di prostaglandine.

2.4 La trasmissione

Gli impulsi generati dallo stimolo doloroso passano attraverso i nervi sensitivi periferici, arrivano alle corna dorsali del midollo spinale e da qui risalgono sino al tronco, al talamo ed alla corteccia. Le fibre A δ e C all'ingresso nel midollo spinale si biforcano formando collaterali che stabiliscono sinapsi con i neuroni del cordone posteriore sia a livello d'ingresso al midollo, che - dopo breve ascesa e discesa nel fascio di Lissauer - ai livelli midollari vicini. I neuroni con cui tali fibre stabiliscono le

sinapsi sono principalmente localizzati nella zona marginale del midollo spinale (Lamina I) e della sostanza gelatinosa (Lamina II). Alcune fibre del gruppo A δ proiettano, più profondamente, ai neuroni della lamina V.

Tre le principali classi di neuroni che, a livello delle corna dorsali, ricevono stimoli provenienti dalle fibre nocicettive:

- neuroni di proiezione, che inviano le informazioni ricevute ai centri superiori (tali neuroni sono contenuti soprattutto nella lamina I);
- interneuroni locali di tipo eccitatorio, che inviano l'informazione ai neuroni di proiezione;
- interneuroni inibitori che regolano il flusso di informazioni inviate ai centri superiori.

Nella lamina I, oltre ai neuroni di proiezione che ricevono sinapsi con le fibre A δ e C, ne esistono anche altri che ricevono stimoli dai meccanocettori a bassa soglia (fibre A α). Questi neuroni, chiamati "Wide Dynamic Range Neurons" o neuroni multi-recettoriali, rispondono a stimoli diversi, intervenendo nei processi di facilitazione della trasmissione nervosa. I neuroni multi-recettoriali possono trovarsi, oltre che nella lamina superficiale, anche nelle lamine più profonde (V e VI).

Le vie tramite cui gli stimoli nocicettivi vengono trasmessi al midollo ed ai centri superiori sono di quattro tipi: il tratto spino-talamico, la principale via di trasmissione degli input nocicettivi. E' composto dagli assoni dei neuroni di proiezione e da quelli del WDRN (lamine I, V e VII), che terminano a livello dei nuclei talamici (nucleo centro-laterale e ventrale postero-laterale). Essi incrociano la linea mediana risalendo nella bianca antero-laterale del lato opposto.

Gli assoni dei neuroni nocicettivi delle lamine VII e VIII danno origine al tratto spino-reticolare, che ascende sempre nella regione antero – laterale del midollo spinale. A differenza delle fibre del tratto spino-talamico, solo alcune di questo tratto decussano. Le fibre terminano a livello della formazione reticolare che si estende dal tronco sino al talamo.

I neuroni nocicettivi delle lamine I e V proiettano, tramite il fascio spino-mesencefalico, alla formazione reticolare del mesencefalo (parte laterale della sostanza grigia periacqueduttale), che ha connessioni reciproche con il sistema limbico attraverso l'ipotalamo. Molti neuroni delle lamine III e IV, che possono ricevere stimoli dalle fibre nocicettive, proiettano attraverso il tratto spino-cervicale al nucleo laterale cervicale (regione dorso-laterale del midollo spinale), da cui successivamente - dopo decussazione - ascendono tramite la via del lenisco mediale sino al mesencefalo e al talamo (nucleo laterale ventro-posteriore e posteriore mediale). Alcuni neuroni delle stesse lamine proiettano nella colonna dorsale del midollo spinale ai nuclei cuneato e gracile. Gli stimoli convogliati nei diversi fasci, una volta giunti al talamo, vengono proiettati sostanzialmente a due maggiori gruppi dei nuclei talamici.

Il gruppo dei nuclei mediali (nucleo centro-laterale e complesso intralaminare) riceve le afferenze prevalentemente dai neuroni delle lamine VI e VII, che hanno i campi di ricezione più ampi, sia direttamente che indirettamente tramite la sostanza reticolare; il gruppo dei nuclei laterali (nucleo ventro-basale e posteriore) riceve prevalentemente fibre dei neuroni nocicettivo-specifici e WDRN delle lamine I e V. Anche a livello talamico i neuroni che ricevono gli stimoli nocicettivi presentano le stesse caratteristiche dei WDRN e dei neuroni nocicettivo-specifici del midollo spinale.

I neuroni del gruppo mediale talamico proiettano in maniera diffusa a diverse regioni della corteccia ipsilaterale; quelli del gruppo laterale inviano l'informazione direttamente alla corteccia somatosensoriale primaria.

2.5 La modulazione

La variabilità di risposta al dolore, oltre ad essere il risultato della complessa base anatomo-fisiologica che regola il processamento dello stimolo doloroso, conferma l'esistenza di un complesso sistema di modulazione dello stimolo doloroso. In particolare, si parla di inibizione segmentale facendo riferimento agli interneuroni spinali inibenti, e di inibizione discendente intendendo quella proveniente dalle regioni sovra-spinali.

La funzione inibitoria può essere attivata: a livello delle corna dorsali del midollo spinale - tramite controllo degli input dolorosi che risalgono lungo le vie ascendenti; a livello corticale, tramite l'attivazione di specifiche strutture (amigdala, ipotalamo); attraverso stimolazione della sostanza grigia periventricolare, della sostanza periacqueduttale e del sistema reticolare bulbare (nucleo rostro-ventrale) (Figura 1).

Del sistema di modulazione inibitorio spinale fanno parte il sistema oppiaceo, le vie inibitorie discendenti, ed un sistema di controllo neuronale di tipo inibitorio locale (esplicitato dalla teoria del gate-control).

Il sistema oppiaceo endogeno presenta una distribuzione anatomica diversa in base alla classe di oppioidi che lo costituisce (enkefaline, β -endorfine e dinorfine), ma in generale è presente nei siti cruciali dove si svolge il processo di modulazione dello stimolo nocicettivo. Le cellule che contengono enkefaline e dinorfine si trovano al livello di sostanza grigia periacqueduttale, parte rostro-ventrale del midollo allungato, e del corno

posteriore del midollo spinale (Lamine I e II). Al contrario, le β -endorfine sono contenute prevalentemente a livello di ipotalamo, nei neuroni che inviano proiezioni alla sostanza grigia periacqueduttale ed ai neuroni noradrenergici del tronco.

Il controllo sovraspinale sulla trasmissione degli stimoli nocicettivi è il risultato dell'interazione del sistema oppiaceo e delle vie discendenti monoaminergiche (inibitorie).

Le vie inibitorie discendenti (serotoninergiche e noradrenergiche) sono formate dagli assoni dei neuroni che si trovano in zona periacqueduttale e periventricolare, oltre ai neuroni della sostanza grigia rostroventrale, a livello dei nuclei del rafe magno e reticolare paragigantocellulare. Tali assoni terminano nelle lamine I, II e V del corno posteriore del midollo spinale. Nelle stesse aree d'origine delle fibre delle vie inibitorie discendenti, si ritrovano pure le cellule che contengono gli oppioidi endogeni (enkefaline e dinorfine).

Studi sperimentali condotti su animali hanno dimostrato che si produce analgesia tramite: stimolazione elettrica delle zone periacqueduttali; applicazione, nella stessa sede, di morfina; applicazione di serotonina o di noradrenalina a livello del midollo spinale. Da questi risultati sperimentali si ipotizza che il sistema endogeno oppiaceo agisca attraverso un processo disinibitorio sul sistema monoaminergico. Gli oppiacei sopprimerebbero l'azione di inter-neuroni che rilasciano, in condizioni di riposo, acido γ -aminobutirrico (GABA), inibendo l'azione delle fibre discendenti.

L'azione di modulazione e controllo del dolore da parte del sistema oppiaceo avverrebbe anche attraverso altri meccanismi a livello di midollo spinale (Lamine I e II). Gli interneuroni contenenti enkefaline inibirebbero la trasmissione nocicettiva delle fibre afferenti con un'azione inibitoria esplicata sia a livello pre- che post-sinaptico. Le

fibre discendenti che rilasciano la serotonina attiverrebbero gli interneuroni locali, che contengono le enkefaline, oltre ad inibire direttamente l'attività dei neuroni di proiezione.

Il processo di modulazione locale del dolore (Melzack e Wall, 1965) avviene invece tramite attivazione delle fibre mielinizzate A α e A β che, oltre ad avere un effetto eccitatorio sui neuroni di proiezione, attivano interneuroni inibitori che fanno sinapsi con i neuroni di proiezione. In particolare, la sostanza gelatinosa - una regione di interconnessione neurale situata nelle lamine I e II delle corna dorsali - eserciterebbe sia influenze inibitorie che eccitatorie sulle cellule T delle corna dorsali.

2.6 La percezione

Le fibre talamo-corticali, percorrendo il braccio posteriore della capsula interna, raggiungono l'area somestesica primaria SI (area 3-1-2 di Brodmann), nella circonvoluzione postcentrale del lobo parietale, estesa sulla superficie mediale dell'emisfero (lobulo paracentrale) e l'area somestesica secondaria SII, nelle regioni opercolari dei lobo frontale e parietale. Nella prima area di percezione vi è una precisa somatotopia, rappresentata dall'homunculus sensorius che appare come una caricatura in cui le regioni più sensibili hanno una rappresentazione corticale più estesa. Nel processo che porta alla coscienza dello stimolo algico partecipa anche l'area somestesica associativa, situata nella circonvoluzione parietale superiore (aree 5 e 7) e inferiore (area 40). Per quel che concerne il riconoscimento della componente affettivo-motivazionale del dolore (che comporta la sgradevolezza dell'esperienza che viene quindi interpretata come "sofferenza" ed avvia i meccanismi di evitamento dello stimolo causale), sarebbero implicati gli stimoli che giungono alla corteccia cingolata

anteriore e frontale, in associazione con strutture del sistema limbico, con l'insula e l'amigdala. L'ablazione totale delle aree somestetiche della corteccia cerebrale non sopprime la capacità di percepire il dolore: gli impulsi che arrivano alla formazione reticolare, al talamo e ad altri centri sottocorticali sono, infatti, ancora in grado di evocare una percezione cosciente del dolore. La corteccia, invece, è fondamentale per la valutazione della qualità della sensazione percepita (Figura 1).

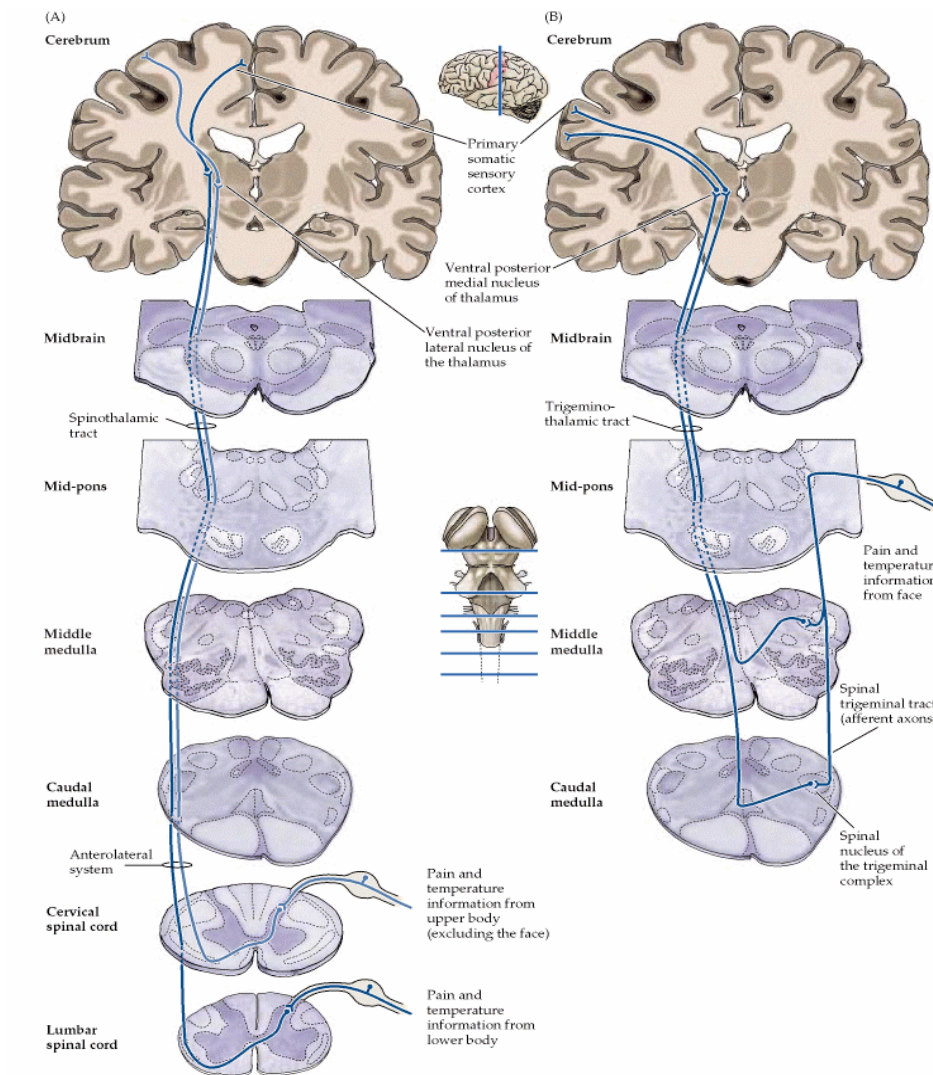


Figura 1 Descrizione delle vie di trasmissione del dolore.

Le sensazioni termiche vengono trasmesse attraverso vie quasi parallele, ma non identiche a quelle per i segnali dolorifici: i fasci entrano nel midollo, decorrono nella

zona di Lissauer e terminano nelle lamine I, II e III. Successivamente gli impulsi decorrono in fibre che decussano e ascendono fino alla sostanza reticolare del tronco e al complesso ventrobasale del talamo, da cui proiettano nell'area somestesica corticale.

Capitolo 3: IL NEONATO PRETERMINE

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (O.M.S.) definisce neonato pretermine quello che nasce tra la 23esima e la 37esima settimana di età gestazionale compiuta (entro 259 giorni, calcolati in base all'ultima mestruazione materna o dalle prime ecografie). Esiste poi una classificazione prematurità internazionalmente riconosciuta per numero di settimane alla nascita: moderata prematurità, compresa tra le 32 e le 37 settimane gestazionali; grande prematurità (VLGA – very low gestational age), compresa tra le 29 e le 32 settimane; grandissima prematurità (ELGA – extremely low gestational age), inferiore le 28 settimane. L'età gestazionale alla quale un neonato ha un 50% di possibilità di sopravvivere era, nello scorso decennio, definita in 24 settimane eta gestazionale minime. Dal 2000 è stata stimata una percentuale di sopravvivenza a 23 settimane del 20%, con la previsione che un'adeguato e tempestivo intervento terapeutico sia in grado di innalzare la percentuale al 50% (Lorenz J.M., 2000).

Una seconda classificazione, introdotta dall'O.M.S. per ridurre la variabilità intrinseca al conteggio dell'età gestazionale in funzione dei tempi delle mestruazioni o delle rilevazioni morfologiche ecografiche , suddivide i neonati in:

- LBW basso peso alla nascita (<2500g)
- VLBW peso molto basso alla nascita (< 1500g)
- ELBW peso estremamente basso alla nascita (<1000g)

Attualmente il limite inferiore della nascita prematura, descritto sempre dall'OMS, è un peso neonatale di 500 g, a fronte dell'esiguo numero di sopravvivenza in condizioni di peso inferiore alla nascita.

Le due classificazioni appena esposte non sono sovrapponibili: solo due terzi dei nati sotto i 2500g sono anche prematuri. In letteratura è poi riconosciuta una condizione particolare, definita “small for gestational age” (SGA), con la quale ci si riferisce al bambino che nascono con un peso inferiore al valore del 10° percentile stimato per quella età gestazionale (Doyle L.W., 2001).

Nei paesi sviluppati, l'incidenza delle nascite pretermine varia tra il 5 e il 10% con un trend in aumento, probabilmente per fattori quali l'incremento delle gravidanze multiple legate anche alla diffusione delle moderne tecniche di fecondazione assistita e i miglioramenti nella pratica clinica di gestione dei parti a rischio e dei prodotti del concepimento. Il 60% della mortalità neonatale nei pretermine riguarda i nati come meno di 28 settimane gestazionali, ma già verso il primo mese di vita dopo la nascita l'incidenza dell'età gestazionale sulla mortalità tende a scomparire.

A causa della nascita prima del naturale completamento della maturazione fisiologica, i pretermine soffrono frequentemente di patologie, a carico di diversi organi e sistemi, la cui gravità sembra essere inversamente proporzionale all'età gestazionale maturata. Le più frequenti sono:

- disturbi neurologici: leucomalacia periventricolare (necrosi coagulativa a piccoli focolai della sostanza bianca); emorragie di varia estensione, paralisi cerebrali, epilessia, deficit cognitivi;
- squilibri metabolici: ipoglicemia, ipocalcemia, ipomagnesiemia, iperbilirubinemia;
- disturbi respiratori: sindrome da insufficienza respiratoria, apnee del prematuro, inalazione massiva di liquido amniotico, malattia delle membrane ialine;

- disturbi cardiocircolatori: persistenza della circolazione fetale (shunt destro-sinistro attraverso il dotto arterioso pervio e il forame ovale);
- infezioni perinatali: conseguenti a manovre terapeutiche ed alle ridotte difese immunitarie;
- enterocolite necrotizzante (NEC, necrosi ischemica della parete del colon);
- sindrome da aspirazione del meconio;
- policitemia o iperviscosità;
- ipotermia;
- difficoltà di suzione o di deglutizione;
- retinopatia del prematuro (ROP),;
- disturbi neuropsichici e neurosensoriali: irritabilità, irregolarità del ritmo sonno-veglia, difficoltà di attenzione, ritardi nelle acquisizioni, deficit sensoriali come ipoacusia o cecità, ritardo mentale.

Queste patologie sono spesso concomitanti nel bambino pretermine, che necessita pertanto di innumerevoli manovre diagnostiche e terapeutiche, più o meno invasive e dolorose. Inoltre i livelli di analgesia necessari sono difficili da stimare e quindi spesso insufficienti (Anand e Porter, 1998).

L'informazione dolorosa è trasmessa alla corteccia dalla 25esima settimana, per cui i nati pretermine non solo sono in grado di percepire dolore legato alla malattia e alle procedure, ma lo percepiscono in modo amplificato per la ridotta attività dei sistemi inibitori discendenti rispetto ai nati a termine o agli adulti. Anand porta molte ragioni a sostegno di questa asserzione: a) il numero delle fibre nocicettive nella cute del neonato

è uguale se non superiore a quello dell'adulto, b) l'incompleta mielinizzazione delle fibre non ostacola la trasmissione del dolore, al più la rallenta, ma è controbilanciata dalla brevità delle vie, c) nel feto è presente abbondanza di neurotrasmettitori funzionanti, d) nella corteccia somatosensoriale vi sono larghi campi neuronali recettivi (Anand e Porter 1998; Anand et al., 1989; Perreault et al., 1997). Inoltre, un altro fattore a sostegno di questa tesi, come precedentemente accennato, è che mentre la trasmissione è ben sviluppata, i meccanismi di modulazione sono immaturi: si osservano ritardi nella maturazione delle vie discendenti inibitorie spinotalamiche, ritardata maturazione degli interneuroni nella sostanza gelatinosa, una possibile carenza di neurotrasmettitori inibitori che non bilancia affatto l'abbondanza di sostanze eccitatorie già presenti alla nascita e un sistema corticale di ricordo del dolore non pienamente sviluppato (Simons H.P. and Tibboel, 2006). A causa di questa ridotta modulazione, c'è un'augmentata eccitabilità a livello delle corna dorsali del midollo e un'augmentata sensibilità che si traducono in un' alterata capacità del neonato di far fronte agli impulsi dolorosi (Fitzgerald, 1995; Anand, 2000).

La percezione del dolore, oltre alle strutture subcorticali, di una precessazione componenti a livello corticale che integri le componenti emozionali ed affettive: recentemente uno studio ha evidenziato una chiara risposta corticale al dolore, misurata come un incremento nella concentrazione dell'emoglobina totale a livello della corteccia somatosensoriale nei neonati di 25 settimane, confermando il potenziale processamento della sensazione a livelli superiori e la plasticità indotta da uno stimolo dolorifico nel cervello umano in un'età così precoce della vita (Slater R. et al, 2006).

Tutte le strutture neurologiche e le sostanze necessarie alla trasmissione e all'interpretazione del dolore sono già presenti alla nascita, ma continuano il loro

sviluppo durante l'infanzia, per cui esperienze nocive possono modellare tale evoluzione e determinare l'architettura finale del Sistema Nervoso adulto (Anand, Phil & Carr, 1989). Nel terzo trimestre, in particolare, si riconosce l'esistenza di una "finestra critica di sviluppo" in cui il cervello è molto malleabile (Alvares e Fitzgerald, 1999; Fitzgerald e Jennings, 1999; Anand & Scalzo, 2000) e di un periodo di rapida crescita cerebrale (plasticità) che rende il neonato più vulnerabile agli effetti dell'insulto doloroso proprio quando egli necessita di essere sottoposto a ripetute procedure nocive nelle Unità di Terapia Intensiva Neonatale (NICU). Normalmente dopo la nascita si verifica uno sfoltimento delle sinapsi prodotte in eccesso durante la gestazione (le fibre afferenti primarie A si ritirano verso le lamine più profonde; Fitzgerald et al. 1994; Beggs et al. 2002), ma esperienze dolorose ripetute porterebbero al mantenimento di molte sinapsi, altrimenti dismesse, o alla formazione di connessioni anomale, con un conseguente aumento della sensibilità al dolore (Anand, Grunau & Oberlander, 1997; Grunau, 2000). Fitzgerald (1995) sostiene che stimoli dolorosi ripetuti nel neonato inducono, per una maggiore disponibilità di fattori di crescita nervosi, un'iperinnervazione con arborizzazione (sprouting) delle fibre A δ e C, portando ad una riduzione della soglia dolorifica (ipersensibilizzazione) al punto che i nati pretermine possono percepire uno stimolo normalmente non algico come doloroso (Fitzgerald 2004; Evans, Vogelpohl, Bourguignon & Morcott, 1997). Inoltre, è possibile che queste alterazioni esitino in cambiamenti nella soglia, nella percezione e nella tolleranza al dolore per tutta la durata della vita.

Nel neonato prematuro, la riserva energetica utile per maturare viene sfruttata per l'aumento della frequenza cardiaca e respiratoria, l'aumento della pressione e del rilascio degli ormoni dello stress e la riduzione in saturazione d'ossigeno che

rappresentano la risposta globale allo stimolo algico (Anand, 1998). Si assiste ad uno sbilanciamento e squilibrio dei sistemi regolatori del neonato: i segni vitali e i cambiamenti nella saturazione arteriosa riflettono l'instabilità del Sistema Nervoso Autonomo, i movimenti disorganizzati in risposta al dolore evidenziano lo sbilanciamento motorio, problemi di regolazione del ciclo sonno/veglia, di alimentazione, e anche di relazione con la madre.

I disturbi del ciclo sonno/veglia, essendo questo meccanismo collegato ai sistemi di controllo dell'attenzione e delle emozioni, possono influire sullo sviluppo neurologico del neonato che risulta a più alto rischio di sviluppo di deficit dell'attenzione e disturbi emozionali (Grunau, 2000). La risposta al dolore causa anche l'aumento della pressione intracranica e un aumento secondario del volume ematico intracranico che esita in frequenti emorragie intraventricolari (IVH) e leucomalacie periventricolari (PVL) e lesioni neurologiche (Anand, 1998; Anand, 1999) denunciò la necessità di considerare che le risposte al dolore possano influenzare l'outcome dei piccoli pazienti a breve e a lungo termine: in particolare pose l'accento sull'iperattivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene che può portare a cambiamenti tardivi e permanenti nella risposta comportamentale ed endocrina allo stress. Il sollievo al dolore aiuterebbe il bambino a regolare i sistemi sbilanciati dalla stimolazione algica ripetuta.

Grunau (2000) afferma che quando un messaggio doloroso viene inviato ci sono cambiamenti molecolari nel Sistema Nervoso e viene posto un marker, per cui si ha una memoria implicita dell'avvenimento, che opera al livello di condizionamento senza consapevolezza e che non potrà essere richiamata consciamente, ma che comunque è presente a livello subconscio già dalle prime età della vita. (Johnston & Steven 1996).

Dalle considerazioni appena fatte, è chiaro che quando un neonato sperimenta un dolore severo e ripetuto si verificano conseguenze nocive sul Sistema Nervoso a breve e a lungo termine, evidenti soprattutto nei nati pretermine che, durante questo periodo critico dello sviluppo, sono più vulnerabili al danno neurologico. Tra gli effetti precoci (giorni e settimane) vi sono un'instabilità psicologica, un aumento dell'incidenza di complicanze come l'emorragia intraventricolare, disturbi del sonno, dell'alimentazione, sindromi dolorose croniche, disturbi somatici, sviluppo di iperalgesia primaria o secondaria (Fitzgerald et al. 1989; Andrews e Fitzgerald, 1994 e 2002; Taddio et al 2002).

3.1 Conseguenze della prematurità' sugli aspetti cognitivo-comportamentali e sui sistemi di trasmissione del dolore.

Nei nati pretermine è possibile osservare sensibili alterazioni, nel primo anno di vita, nell'orientamento verso l'oggetto e nel controllo dell'angoscia; si riscontrano anche comportamenti mal adattativi in assenza di livello intellettuale inferiore alla norma. I prematuri tendono ad avere più disturbi psicosomatici e disordini cognitivi durante l'infanzia, rispetto ai nati a termine (Bhutta A.T., 2002); presenterebbero inoltre incapacità di adattamento e gestione dell'emotività in situazioni sociali o esperienze nuove (Anand, Grunau, & Oberlander, 1997; Grunau, 2000).

Alcuni studi mostrano inoltre un incremento di disturbi attentivi a 3 e 9 anni in funzione dei tempi di permanenza in NICU (Mitchell A, Boss BJ, 2002).

Grunau (2000) elenca alcuni meccanismi come determinanti nella strutturazione dei disturbi emotivi e cognitivi dei bambini ex pretermine: a) modificazioni delle vie del dolore, b) cambiamenti nel volume ematico cerebrale con danno encefalico, c)

sconvolgimento del ciclo del sonno, d) disturbi dell'auto-regolazione, e) l'associazione tra dolore e attenzione e sviluppo cognitivo f) l'associazione tra dolore ed emotività e sviluppo sociale ed emozionale.

Tuttavia, sempre Grunau (2000) sottolinea la difficile lettura di questo tipo di studi per la presenza di molti fattori confondenti (come l'e.g. di nascita, la lunghezza dell'ospedalizzazione, l'intensità dello stimolo, le terapie, gli stili di coping dei genitori; Grunau, 2000). Inoltre, più il bambino cresce, più aumentano i fattori confondenti, poiché i maggiori determinanti della sensibilità percepita al dolore sono gli schemi di comportamento appresi all'interno della famiglia (MacGregor et al., 1997).

In letteratura, la percentuale di disabilità severa tra i nati dopo la 25° settimana è stimata intorno al 18-40% (Wood NS et al., 2000).

I primi studi nati dalla necessità di capire le conseguenze a lungo termine di una stimolazione dolorosa perinatale furono eseguiti su cavie, la cui maturità neurologica fu stimata alla pari di quella di un prematuro di 24 settimane, ed evidenziarono, oltre al fatto che gli effetti tardivi dipendevano dalla natura dello stimolo indotto, che le sostanze eccitotossiche rilasciate durante un evento doloroso infiammatorio ripetitivo danneggiavano lo sviluppo nervoso con effetti non solo sulla soglia dolorosa, ridotta per lo sviluppo di un'innervazione anomala, ma anche sui comportamenti a lungo termine. Gli animali, cioè, da adulti, svilupparono una preferenza per l'alcol, ansia e disturbi del comportamento (Anand et al., 1999; Bhutta et al. 2001).

Nonostante la ricca sperimentazione sugli animali, mancano in letteratura studi diretti ad evidenziare come anche nei neonati prematuri l'esposizione a manovre invasive che inducono un dolore nel periodo perinatale, possano comportare delle alterazioni nelle risposte allo stress dopo la dimissione dalle unità di terapia intensiva neonatale (NICU):

la conoscenza delle cause dell'alterata risposta allo stress nell'infanzia sarebbe importante per capire i determinanti dei problemi di apprendimento e comportamentali nei pretermine durante la fanciullezza.

Ad oggi esistono due soli studi in cui è stata effettuata una valutazione a lungo termine delle possibili alterazioni nella percezione del dolore nei bambini nati prematuri (Hermann C et al., 2006; Walker S. et al.).

Capitolo 4: LA RICERCA SPERIMENTALE SUL DOLORE IN AMBITO PEDIATRICO

Gli studi condotti con somministrazione sperimentale di stimolo doloroso presenti in letteratura riguardano in prevalenza l'adulto.

Tra i metodi più utilizzati possono si possono annoverare:

a) metodi termici

consistono nell'applicazione di stimoli caldi o freddi. A questa classe appartengono il calore radiante, la stimolazione laser, la stimolazione Marstock con metodi di contatto, il cold pressor test (Arendt-Nielsen & Chen, 2003). Il calore radiante viene prodotto tramite lampade alogene che stimolano costantemente la cute o che mantengono costante la temperatura della superficie cutanea. L'emissione laser a raggi infrarossi viene ottenuta somministrando una serie di impulsi brevi (20 msec.) che stimolano le terminazioni nocicettive intraepidermiche cutanee (Arendt-Nielsen & Bjerring, 1988). La stimolazione Marstock viene effettuata mediante l'applicazione cutanea di termodi Peltier. Il Cold Pressor Test (introdotto da Hines e Brown nel 1936 per l'adulto) è stato validato come metodo adatto allo studio dei processi di percezione dolorosa ed è anche lo strumento più utilizzato in questo ambito (Thastum M. et al, 1997; LeBaron et al.,1989). Si tratta di un tipo di prova in cui è coinvolta sia la risposta del Sistema Nervoso Autonomo, sia la processazione del dolore a livello del Sistema Nervoso (Smith M.S., 1999). Gli studi che si avvalgono di uno stimolo caldo indagano al più la funzione delle fibre C, mentre questa sperimentazione valuta la percezione di una sensazione fredda che correla maggiormente con la funzionalità delle fibre A- δ . Utilizzato a lungo per studi condotti sugli adulti, il Cold Pressor Test ha ottenuto

consensi anche per quanto riguarda il suo utilizzo con i bambini (Fanurik et al., 1993; Le Baron et al, 1989; Zeltzer et al, 1989). Per una sua descrizione rimandiamo al capitolo 6 Materiali e Metodi.

b) metodi meccanici

vengono utilizzati per produrre sensazioni dolorose tramite deformazione cutanea, facendo uso di pinzette o dispositivi calibrati costituiti da un pistone a pressione d'aria (Gibbs et al., 1999). Le sedi di applicazione principali sono le dita, il processo mastoide, o il dotto esofageo e biliare. Questo tipo di stimolazione può essere protratto per periodi di diversa durata (anche prolungata). Il controllo dello stimolo risulta difficoltoso a causa dell'intervento di diversi fattori quali: l'elasticità tissutale, l'area di stimolazione, il ritmo ed il grado di compressione.

c) metodi chimici

vengono applicati tramite successive iniezioni di piccole quantità di soluzione salina ipo o ipertonica sotto cute, finché il soggetto non percepisca dolore. Si può ricorrere anche alla stimolazione della mucosa nasale tramite sostanze gassose irritanti ad alta concentrazione (ad esempio anidride carbonica), immesse all'interno del setto per mezzo di una corrente d'aria a flusso continuo (Mohammadian et al., 1999). Un metodo alternativo, di tipo indiretto, consiste nell'indurre un'ischemia al braccio, tramite interruzione del flusso ematico. In tal caso, si parla di dolore ischemico, caratterizzato da un andamento incrementale della sensazione dolorosa.

d) metodi elettrici

E' una metodologia frequentemente utilizzata nell'adulto. Consiste nell'applicazione di una tensione elettrica a livello neuronale (centrale o periferico), cutaneo, sottocutaneo o a livello della polpa dentaria (Croft et al., 2002). Le afferenze provenienti da

quest'ultima sede sono in prevalenza legate ai nocicettori, motivo per cui la stimolazione determina l'attivazione dei nocicettori e la percezione di dolore, senza l'intervento aggiuntivo di termo o meccanocettori. La durata degli impulsi (che vengono somministrati successivamente) va da 0.1 a 1 msec, il range di corrente da 0 a 30 mA sulla cute, e da 0 a 100 μ A sulla polpa dentaria. Gli stimoli elettrici hanno lo svantaggio di scatenare un'eccitazione nervosa innaturale altamente sincronizzata che, per modello di scansione temporale e per composizione di afferente in gioco, si distingue dal modello di eccitazione di nocicettori, quale si presenta in situazioni naturali.

Rispetto al bambino, ad eccezione di casi isolati risalenti agli anni '70 ed ai primi anni '80 del secolo scorso, condotti per esplorare aspetti relativi alla reattività autonoma di bambini con dolore addominale ricorrente (i.e.: Apley et al., 1971), i primi esperimenti che hanno presentato nella loro costruzione la condizione di utilizzare uno stimolo doloroso rigorosamente controllato, sono stati effettuati solo nel decennio successivo. Le ricerche condotte prima di allora erano prevalentemente di tipo retrospettivo e confinate ad esperienze passate di dolore o a situazioni immaginate (Gaffney & Dunne, 1986; Saverda et al., 1982). Ciò limitava fortemente la validità dei dati raccolti a causa sia dell'interferenza di distorsioni mnestiche, che delle proprie aspettative. La presenza di variabili confondenti assumeva un peso importantissimo anche quando l'attenzione veniva rivolta all'ambito clinico: ricerche effettuate su bambini che eseguivano procedure invasive (Zeltzer & LeBaron, 1982), o su bambini affetti da dolore cronico (Varni et al., 1987), dovevano necessariamente tener conto della variabilità dei dati raccolti in funzione della tipologia e della gravità della patologia, e dell'ansia associata a precedenti esperienze. Ad aumentare la complessità del quadro si aggiungevano fattori

evolutivi, personali e familiari che condizionano, attraverso modalità tutt'oggi poco chiare, il processamento degli stimoli dolorosi.

Fra i vari metodi di induzione sperimentale del dolore, quello maggiormente riconosciuto come accettabile per l'età pediatrica, grazie alla ridotta invasività, alla familiarità della stimolazione ed al limitato impatto emotivo, è a oggi il Cold Pressor Test. Tra i principali autori che se ne sono occupati sono da annoverare: Le Baron, Zeltzer e Fanurik (1989) che cercarono di trovare un metodo standardizzato di induzione nocicettiva applicabile in età pediatrica, che avesse un impatto di distress minimo e di cui il bambino avesse presumibilmente fatto esperienza in passato; Thastum e colleghi (1998) che utilizzarono il Cold Pressor Test in ambito pediatrico per testare la validità di questionari finalizzati a studiare le strategie di coping e l'efficacia d'uso degli stili di coping utilizzati dai bambini; Fanurik e colleghi per primi (1993) hanno analizzato le strategie di coping utilizzate spontaneamente dai bambini durante l'induzione del dolore indotto tramite cold pressor test, effettuando una distinzione tra "attenders" e "distractors" nel caso in cui rispettivamente i bambini focalizzassero l'attenzione sulle sensazioni provate o usassero strategie di distrazione dallo stimolo doloroso; Piira e colleghi (2002) hanno analizzato la latenza di tolleranza al dolore indotto dal cold pressor test come misura di outcome per verificare l'influenza delle strategie di auto-efficacia dei bambini nonché delle strategie di coping messe in atto durante la stimolazione. Altro importante settore in cui si è sviluppato l'utilizzo del cold pressor test è quello relativo allo studio del ruolo che i comportamenti dei genitori hanno sull'esperienza di dolore del bambino (Goodman & McGrath, 2003) e di come l'interazione genitore-figlio influisse sulle risposte di dolore fornite dai bambini (Chambers et al., 2002).

Capitolo 5: SCOPO DELLO STUDIO

Il lavoro qui di seguito esposto nasce dal desiderio di provare a integrare i contenuti già esplorati da altri autori riguardo al dolore sperimentale in ambito pediatrico, utilizzando una metodica laboratoristica di induzione sperimentale di stimolo doloroso rigidamente controllata, al fine di isolare e limitare quanto più possibile l'effetto delle molteplici variabili confondenti di natura clinica.

In particolare, la presente ricerca ha come scopo la valutazione e la comparazione della percezione del dolore in bambini provata da bambini ex-prematuri e da bambini nati a termine.

A fronte di studi di tipo tendenzialmente retrospettivo, per lo più self report (interviste strutturate e questionari), in letteratura viene esclusa l'esistenza di differenze nella percezione degli stimoli dolorosi tra la popolazione i bambini ex pretermine e i bambini nati a termine (Grunau et al., 1998; Porter et al. 1999; Grunau et al., 2000). Una rilettura critica di queste posizioni è stata di recente offerta da due studi recenti di tipo clinico: il primo, realizzato in Germania (Hermann et al., 2006), e condotto utilizzando una stimolazione termica, ha riscontrato la presenza di un'accentuata soglia di percezione del dolore in bambini tra i 9 e i 14 anni, ex pretermine (età gestazionale media 28,6 settimane) o nati a termine (e.g. media 38,8 settimane), che avessero subito trattamenti invasivi in epoca neonatale, rispetto a alla percezione del dolore rilevata in bambini nati a termine mai sottoposti a trattamenti invasivi. Il secondo studio, realizzato in Inghilterra (Walker S. M. et al. 2009), messi a confronto 43 bambini ex pretermine (e.g. < 31 settimane) con 44 bambini nati a termine (e.g. > 37 settimane), rileva differenze significative nelle latenze di soglia di percezione del dolore, attribuendo ai nati

pretermine, specie quelli sottoposti a interventi chirurgici, una rilevabile ipoalgesia a tutti gli stimoli termici utilizzati nello studio.

Si rileva come nessuno studio abbia invece analizzato un altro importante indice di latenza in condizioni di stimolo algico sperimentalmente indotto: la tolleranza alla percezione del dolore. Obiettivo primario della ricerca è [1] indagare la possibile presenza di diversità di percezione, in termini di latenze di soglia e tolleranza, nel confronto tra un gruppo di bambini ex pretermine e un gruppo di coetanei nati a termine, attraverso l'uso del Cold Pressor Test. Secondariamente, lo studio è volto a: [2] indagare l'eventuale relazione tra alcune variabili anagrafiche e neonatali (sesso, età gestazionale, peso alla nascita, tipo di parto, gemellarità, punteggio di Apgar) e la percezione del dolore in entrambi i gruppi; [3] indagare l'eventuale relazione tra alcune variabili legate alla perinatalità (terapia, manovre invasive e interventi chirurgici subiti, durata del primo ricovero, altri ricoveri) e la percezione del dolore per il solo gruppo dei bambini ex pretermine; [4] condurre un'analisi di alcune variabili emodinamiche dei soggetti nelle diverse fasi del test (baseline, induzione dolorosa e recupero) sulla base delle indagini inter e intra gruppi definite sopra ai punti [1], [2] e [3].

Capitolo 6: MATERIALI E METODI

Si precisa che la ricerca presentata in questo lavoro ha avuto inizio
previa approvazione del Comitato Etico per la Sperimentazione
dell'Azienda Ospedaliera – Università di Padova.

6.1 Reclutamento e costruzione del campione sperimentale e del campione di controllo

a) Criteri di inclusione

Per la conduzione dello studio sono stati reclutati due gruppi, uno sperimentale e uno di controllo, composti entrambi da bambini e bambine d'età compresa tra 10 anni (120 mesi) e 10 anni, 11 mesi e 30 giorni (131 mesi e 30 giorni).

Il gruppo sperimentale è composto da bambini e bambine ex pretermine nati tra la 23esima e la 37esima settimana di età gestazionale compiuta, ovvero entro 259° giorno di gestazione, calcolato in base all'ultima mestruazione materna e/o dalle prime ecografie in gravidanza, come definito dall'O.M.S.. I loro nominativi sono stati raccolti dalle registrazioni dei ricoveri avvenuti, tra il Novembre 1995 e il Febbraio 1997, presso Reparto di Patologia Neonatale del Dipartimento di Pediatria di Padova. Dopo una cernita iniziale dei nominativi raccolti, che ha escluso bambini con diagnosi alla nascita di patologia cronica o genetica, si è proceduto a una ricerca nell'archivio informatizzato del Dipartimento di Pediatria, attraverso la quale è stato possibile recuperare i contatti telefonici dei genitori di 251 bambini ex pretermine. Di questi, 88 (35%) hanno dato l'assenso per la partecipazione dei figli allo studio.

Il gruppo di controllo, reclutato mentre era in corso la fase sperimentale con gli ex pretermine, è costituito da bambini e bambine sani, nati a termine, contattati attraverso alcune scuole del Comune di Padova, previa autorizzazione dei Circoli Didattici competenti: durante l'orario di scuola sono stati distribuiti, con la collaborazione delle maestre, i moduli contenenti le informazioni relative agli scopi e alle procedure utilizzate per la ricerca, l'invito a partecipare alla ricerca e una scheda per la raccolta delle informazioni anagrafiche di base e i contatti telefonici. Dei 480 moduli consegnati, le maestre ci hanno restituito 58 moduli (12%) compilati dai genitori per aderire alla ricerca.

b) La variabile età nei gruppi

La scelta di restringere il range di età nei due gruppi al solo decimo anno di vita, nasce dall'esigenza di ridurre l'incidenza di possibili variabili intervenienti associate all'età dei soggetti.

Tra i 7 e gli 11 anni circa, i bambini attraversano lo stadio definito da Piaget (1969) delle operazioni concrete: l'evoluzione di questo stadio porta alla completa maturazione del concetto di reversibilità delle operazioni concrete, presupposto indispensabile per la comprensione e l'accettazione di come, talvolta, una procedura dolorosa possa essere il solo passaggio utile a recuperare una condizione di benessere (Bush, 1987).

A dieci anni di vita i bambini sono ormai capaci di distinguere e descrivere in loro stessi una dimensione interiore ed una esteriore, e quindi in grado di accedere alla comprensione delle componenti psichiche del dolore (Mc Grath, 1990). I bambini più piccoli tenderebbero a dare una descrizione dell'esperienza dolorosa ristretta basata essenzialmente sulla localizzazione corporea (Gaffney & Dunne, 1986). Quelli più grandi sono invece descritti, in letteratura, come potenzialmente capaci di tollerare più a

lungo lo stimolo doloroso previsto dal C.P.T., presumibilmente per strategie di coping via via più efficaci nella gestione del dolore e un sempre maggiore controllo nell'espressività a questo collegata (LeBaron et al, 1989).

c) La variabile sesso nei gruppi

Durante la costruzione di entrambi i gruppi non si è proceduto a una selezione preventiva dei partecipanti finalizzata a rendere la variabile sesso equidistribuita all'interno dei due gruppi. Questa scelta è stata operata in ragione dell'assenza, in letteratura, di posizioni univoche sul peso da attribuirsi alla variabile sesso sulla percezione del dolore in età pediatrica. Alcuni studi attribuiscono alle femmine una più intensa percezione dello stimolo doloroso rispetto ai maschi (Carr, Lemanek & Armstrong, 1998; LeBaron et al., 1989), dato questo che certa letteratura circoscrive a una risposta del maschio, ancorchè bambino, alle aspettative sociali e culturali (McGrath, 1993). Altri studi invece non hanno riscontrato differenze significative nella percezione del dolore tra i due sessi, rimandando la questione a possibili differenze nelle dimensioni affettive del dolore (Goodenough et al., 1999). Infine, in uno studio recente con il C.P.T. è stato invece posto l'accento sulle "convenzioni sociali di identità genere" (role gender socialization): gli autori hanno investigato un esteso campione (n=240, 50% maschi) di soggetti d'età compresa tra gli 8 e i 18 anni, giungendo alla conclusione che differenze significative nella percezione del dolore sono rilevabili solo dopo la pubertà (Myers C.D., 2006).

d) Criteri di esclusione

Nella costruzione di entrambi i gruppi, sperimentale e controllo, sono stati applicati i seguenti criteri di esclusione:

- presenza di sintomi dolorosi (i.e. cefalea, dolore addominale) con frequenza ≥ 2 episodi al mese;
- presenza di dolore ricorrente cronico (F45.4 Disturbo Algico secondo il DSM IV) diagnosticato nel periodo precedente al test;
- presenza di disturbi psico – comportamentali;
- presenza di deficit neurologici, sensoriali o motori;
- presenza di ipertensione essenziale o di disturbi cardiovascolari;
- presenza di diabete mellito;
- presenza di patologie cutanee.

e) Contatto preliminare con i bambini

Tutte le famiglie dei bambini dei due gruppi sono state contattate telefonicamente utilizzando una traccia di comunicazione standard, sviluppata dall'equipe di ricerca al fine di fornire a tutti le medesime informazioni sul progetto di ricerca e le condizioni dell'esperimento, contenendo al minimo indispensabile la quantità di dati che i genitori avrebbero potuto condividere con i figli. Questa attenzione al contatto preliminare trova riscontro in letteratura, in particolare per quanto riguarda la possibile influenza di un eccesso di dati a carico del soggetto sull'outcome della prova (Coldwell S.E., Kaakko T. et al., 2002). Nella stessa occasione si procedeva anche a indagare la possibile presenza dei criteri di esclusione sopra esposti.

Complessivamente hanno aderito 146 bambini, di questi uno è stato scartato perché affetto da disturbi cronici segnalati solo al momento della prova. Lo studio del gruppo bambini ex pretermine è stato condotto da Novembre 2005 a Febbraio 2007, quello del

gruppo nati a termine si è protratto fino all'inverno 2007. Non è stato offerto alcun compenso per la partecipazione allo studio.

6.2 Strumentazione e materiali

Nel presente studio l'induzione dello stimolo doloroso è ottenuta attraverso il Cold Pressor Test. Si tratta di una procedura semplice e non invasiva di induzione di uno stimolo termico non estraneo a sensazioni potenzialmente familiari per il bambino, come quella provata giocando con la neve o nel contatto con l'acqua fredda corrente che fuoriesce da un qualsiasi rubinetto domestico in inverno. Lo stimolo doloroso non produce alcun tipo di danno irreversibile al bambino; la sensazione dolorosa aumenta gradatamente, consentendo al bambino di controllarne la progressione e di interrompere la prova prima che la stimolazione nocicettiva diventi eccessivamente dolorosa

Ciononostante, l'uso di questo strumento in ambito pediatrico è stato fino a poco tempo fa condizionato da un'eccessiva variabilità della temperatura dell'acqua rilevata durante l'esecuzione del test ($\pm 2^\circ$ C), impedendo un sufficiente standardizzazione dell'esperimento (LeBaron et al., 1989; Zeltzer et al. 1989; Fanurik et al., 1993; Thastum et al., 1997; Thastum et al., 1998; Piira et al., 2002).

Per la conduzione delle prove sperimentali qui raccolte, sono stati invece utilizzati alcuni tra gli standard di più attuale riconoscimento presenti in letteratura, validati per ottenere condizioni sperimentali utili a ottenere un controllo ottimale delle variabili strumentali al fine di implementare la validità dei risultati (Trapanotto et al., 2008).

La strumentazione è costituita da una vasca riempita d'acqua (addizionata con Amuchina al 5%) al cui interno è fissato un supporto inclinato di 40% su cui viene fatto poggiare il braccio non dominante del bambino (figura 1).

Figura 1



La struttura della vasca è completamente in plexiglass, materiale che consente un buon isolamento termico. A questa struttura è collegato un condizionatore esterno per acquari (modello Miniflite, ditta Sfiligoi s.r.l.), dotato di un termostato elettrico digitale collegato a una sonda termica posta all'interno della vasca, utilizzato per il raffreddamento dell'acqua alla temperatura prestabilita per lo studio ($10\pm 0,5^{\circ}\text{C}$). Viene inoltre utilizzato un termometro digitale, anch'è collegato via sonda all'acqua fredda, per ottenerne in tempo reale la temperatura ed avere quindi la sua misura esatta all'inizio della prova.

All'interno della vasca è inserita una serpentina collegata ad un compressore esterno che crea un flusso di aria compressa per evitare la formazione di un microambiente più caldo attorno al braccio del bambino (modello Stellar S.20). In prossimità dell'ingresso

della serpentina è presente una valvola, periodicamente controllata dall'equipe, che impedisce il reflusso dell'acqua all'interno del compressore.

Condizionatore e compressore sono certificati in base alle normative CE in materia di sicurezza; entrambi sono stati testati dall'ufficio tecnico dell'Azienda Ospedaliera di Padova ed è stato escluso ogni rischio di dispersione elettrica. Si precisa che tutte le sessioni sperimentali sono state condotte con la vasca elettricamente scollegata dal compressore e da compressore e condizionatore, al fine di evitare qualsiasi rischio, ancorché remoto, di contatto tra i bambini e la sorgente di alimentazione.

Infine, per mantenere stabile la temperatura, la sommità della vasca è dotata di un telo in neoprene, con una fessura longitudinale attraverso la quale il bambino infila il braccio e, tra un esperimento ed il successivo, viene posta una copertura in plexiglass sulla vasca.

Il monitoraggio emodinamico è stato effettuato utilizzando un *bioimpedenziometro*, che offre una serie di vantaggi: la non invasività, la facilità d'utilizzo, la possibilità di monitoraggio continuo battito-battito. Il modello utilizzato è il Cardioline Physioflow PF-05 Lab1 [Manatec Biomedical, Francia].

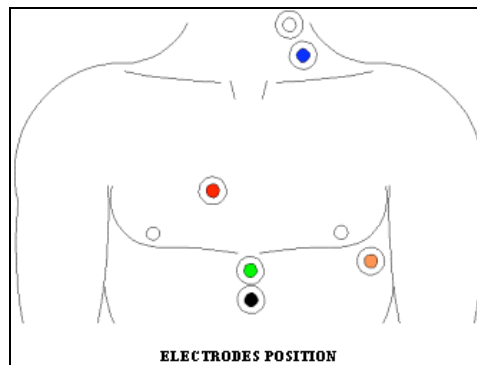
figura 2



Questo strumento utilizza una corrente di misura sinusoidale con bassa ampiezza (3.8 mA picco-picco) ed alta frequenza (KHz), emessa attraverso due elettrodi (bianco e

nero) posizionati sulla cute del soggetto e disposti nel seguente modo: uno sul collo, lungo il decorso della carotide; l'altro sul torace, sotto il processo xifoideo dello sterno. Gli elettrodi sensori sono due, anch'essi posizionati all'interno del campo elettrico generato dalla coppia precedente, uno alla base del collo (azzurro), l'altro a livello del processo xifoideo (verde). Un'ultima coppia di elettrodi in posizione V_1 (rosso) e V_5 (arancio) consente di ottenere il tracciato ECG (Mickell et al., 1990). Per il posizionamento degli elettrodi si veda la figura 3.

figura 3



Il Physioflow misura direttamente l'HR e lo SV, mentre altri parametri emodinamici sono calcolati come misure indirette. Infine, le pressioni arteriose vengono immesse nel PC dall'operatore. Prima di effettuare ogni registrazione il Physioflow deve essere calibrato sul soggetto. Durante la registrazione è possibile verificare l'attendibilità del segnale attraverso la visualizzazione della traccia ECG e delle curve di variazione dell'impedenza toracica dZ/dt . Per il monitoraggio dei segnali sono stati utilizzati elettrodi di superficie monouso (Ag/AgCl: Red Dot 3M Health Care, Germania), impiegati in ambito pediatrico clinico, aggiungendo una pasta elettroconduttrice per

ECG, prima di ogni applicazione sulla cute previa pulizia con pasta abrasiva idrosolubile.

Viene inoltre misurata la plica cutanea tramite *plicometro* manuale (Holtain LTD Crymych UK).

Nel corso dell'esperimento viene inoltre misurata la valutazione soggettiva di percezione del dolore, attraverso strumenti di uso diffuso per l'età pediatrica:

- Facial Affective Scale – FAS (McGrath, 1987): “scala con faccette” validata per l'età pediatrica, valuta la dimensione affettiva del dolore, ed è costituita da nove item che rappresentano diverse espressioni facciali: da “molto felice” (0.04) a “molto triste” (0.97). Si chiede al bambino di indicare l'espressione disegnata che meglio rappresenta il modo in cui si sente in un preciso momento. La scala viene somministrata in fase di baseline [t 0] e all'inizio della in fase di recupero [t 4].
- Coloured Analogue Scale – CAS (McGrath et al., 1996): scala analogo-visiva colorata validata per l'età pediatrica. Si utilizza per misurare l'intensità del dolore, chiedendo al bambino di indicare (tramite marker scorrevole) quanto dolore percepisca, nel nostro caso al braccio. Sulle estremità della scala sono indicati “nessun dolore” (0) e il “massimo dolore” (10). Tempi e modalità di somministrazione sono gli stessi per la FAS
- Scala numerico-verbale [VRS] (0-10): è una scala estremamente diffusa ed utilizzata in età pediatrica, anche se non validata. In questo studio ne viene

utilizzata una versione modificata: il bambino è chiamato a descrivere l'intensità del dolore percepito, scegliendo un numero su una scala da 1 (minima chiara percezione del dolore) a 10 (il massimo dolore). La rilevazione del dolore è scandita in intervalli regolari di 10", in corrispondenza all'emissione di un suono, a partire da 10" dopo il raggiungimento del punto di soglia [t 2] fino al momento indicato come di massima tolleranza [t 3].

Nel corso della prova vengono anche somministrati due test:

- Child Behavior Checklist [CBCL, 4-18] (Achenbach, 1991) – autosomministrato dal genitore mentre il bambino è in sessione sperimentale – E' un test di valutazione degli aspetti psico-comportamentali per soggetti da 4 a 18 anni costituito da 113 item distribuiti in 8 diverse sotto-scale (introversione I, disturbi somatici II, ansia/depressione III, problemi sociali IV, problemi attentivi V, disturbi del pensiero VI, comportamenti aggressivi VII, comportamenti della condotta VIII). Dalle sottoscale venivano poi estratte 2 scale riassuntive: Scala dell'internalizzazione (Σ sottoscale I,II,III) e Scala dell'esternalizzazione (Σ sottoscale VII e VIII), ed un punteggio globale (Σ di tutte le sottoscale).
- Test dell'Ansia e della Depressione [TAD] (Newcomer, Barenbaum, Bryant, 1995) – autosomministrato dal genitore; etero somministrato al bambino – E' un test costituito da 22 item associati ad una scala d'ansia ed una di depressione nella forma etero-somministrata al bambino, e da 28 item associati ad una scala d'ansia, di depressione e di disadattamento sociale nel modulo auto-compilato dal genitore. I punteggi vengono suddivisi nelle seguenti sottoscale: Ansia e Depressione secondo

la valutazione effettuata dal bambino; Ansia, Depressione e Disadattamento sociale, in base alle valutazioni del genitore.

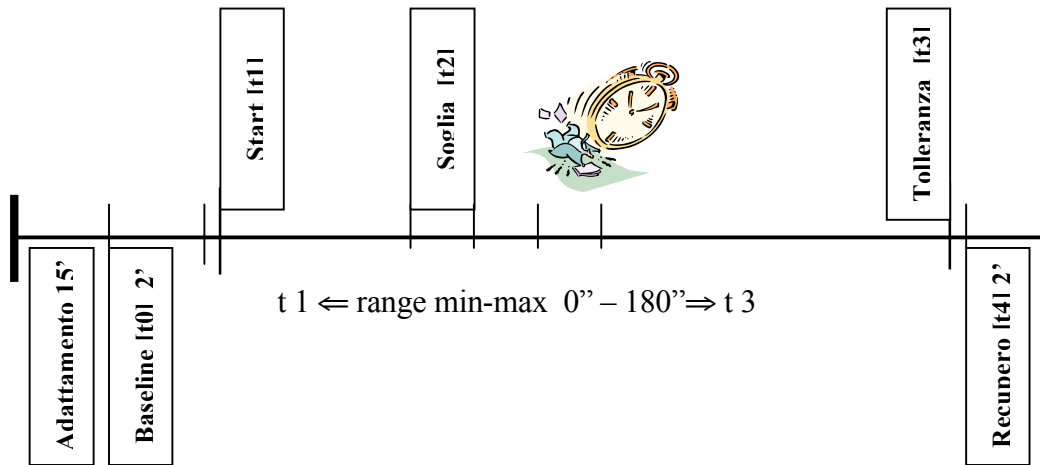
6.3 Procedura

Si precisa che, al momento dell'accoglimento iniziale, ogni bambino e il genitore accompagnatore, mentre venivano loro mostrate tutte le apparecchiature in uso, sono stati sinteticamente informati sui passaggi essenziali dello svolgimento dell'esperimento. Questo consentiva al bambino di familiarizzare, alla presenza del genitore, con l'ambiente di laboratorio, l'apparecchiatura sperimentale e l'equipe di ricerca. A fronte delle informazioni fornite, si chiedeva al bambino e al genitore di confermare l'adesione all'esperimento e quindi, a entrambi, la firma del modulo per il consenso informato alla partecipazione alla ricerca, previa precisazione che la prova avrebbe potuto comunque essere interrotta dal bambino o dal genitore in qualsiasi momento del suo svolgimento. Prima di procedere con l'esperimento veniva chiesto al genitore di uscire dal laboratorio, per evitare che la sua presenza potesse influire sulle latenze espresse dal bambino, come sottolineato anche dalla letteratura più recente (Walker et. al., 2009; Hohmeister J. et al., 2009); veniva chiesto anche l'assenso del bambino: nessuno dei partecipanti ha rifiutato.

La sessione sperimentale

L'esperimento vero e proprio, condotto alla solitamente in presenza del bambino e di tre operatori dell'equipe di ricerca, si compone di più fasi, temporalmente definite e graficamente riassunte in (figura 4).

figura 4



- La fase di adattamento iniziale (15 minuti circa)

Durante la fase di adattamento iniziale vengono misurati peso ed altezza del bambino (per la rilevazione degli indici emo-dinamici descritti nelle misure di outcome) e plica cutanea; vengono applicati gli elettrodi e posizionato lo sfigmomanometro per la registrazione degli indici fisiologici.

Successivamente vengono spiegati al bambino tutti i dettagli dei passaggi di cui si compone la prova, istruendolo su come affrontarli. E' questa una fase estremamente delicata, che necessita di attenta preparazione da parte degli operatori al fine di evitare un eccesso di informazioni, in particolare quelle relative ai tempi effettivi della prova, che, in ricerche sugli adulti (i.e.: Williams & Thorn, 1989; Crombez et al., 1994) e sui bambini (Coldwell S.E., Kaakko T. et al., 2002), sono risultate correlate a una diminuzione della percezione dello stimolo doloroso, sulla base di meccanismi ancora di dubbia interpretazione.

Infine, per accertarsi che abbia compreso tutte le istruzioni viene effettuata una breve simulazione della prova, senza induzione dello stimolo, al termine della quale si ricorda

al bambino la possibilità di interrompere la prova in qualsiasi momento e per qualsiasi motivo ne senta il bisogno.

- La di fase di Baseline [t 0] (120'' cronometrati con cronografo digitale)

Viene chiesto al bambino di immergere il braccio non dominante in una vasca con acqua la cui temperatura viene mantenuta tra i 26,0° C e 28,0° C, al fine di ottenere una temperatura cutanea standard in tutti i soggetti all'inizio della prova. Questo accorgimento trova riscontro in letteratura: alcuni autori (Hilz et al. 1998) attribuiscono un'influenza riconoscibile, seppur limitata (<30%), della temperatura superficiale sulle latenza di soglia

Durante questa fase, il bambino è invitato a dare una valutazione di eventuali dolori percepiti (somministrazione iniziale di CAS) al braccio su cui si andrà a somministrare lo stimolo doloroso e della loro dimensione affettiva (somministrazione iniziale di Fas).

- La fase di Start [t1] (induzione dello stimolo sperimentale; range 0''–180'')

Il bambino viene aiutato ad immergere il braccio non dominante all'interno della vasca a 10° C (± 0.5 °C), fino a un punto contrassegnato a penna nell'incavo del gomito (1.5 cm ca. al di sopra della piega antecubitale), in modo tale che la parte dorsale aderisca al supporto forato in plexiglass e quella ventrale sia invece completamente esposta all'acqua fredda. Inoltre si chiede al bambino di mantenere la mano ben aperta (figura 1). Dal momento esatto dell'immersione ha inizio il cronometraggio (in secondi) della somministrazione dello stimolo sperimentale, utilizzando un programma informatico elaborato ad hoc, denominato ColdArm. Nella fase di adattamento il bambino ha ricevuto l'istruzione di dire ad alta voce il comando 'Ora!' nel momento in cui percepirà

la prima chiara sensazione di dolore (punto di Soglia, [t 2]). Se il bambino emette il comando ‘Ora!’, l’operatore preposto alla gestione del programma ColdArm, registra il tempo di latenza di soglia e, sempre con questo programma, darà avvio alla misurazione del tempo di tolleranza. Il ColdArm è progettato in maniera tale da far emettere, al computer su cui è caricato, il suono un campanello: questo input, che ha inizio solo se viene raggiunto il punto di soglia, viene riproposto ogni 10 secondi per tutto il tempo rimanente della prova. Il bambino è stato istruito a quantificare su una scala da 1 a 10 (VRS) la sensazione di dolore provata successivamente al punto di Soglia [t 2]. I valori numerici espressi dal bambino per esprimere l’intensità del dolore percepito vengono riportati uno a uno in sequenza temporale nel programma ColdArm.

La prova termina nel momento in cui il bambino ritiene che il dolore non è più sopportabile o in corrispondenza del limite temporale massimo di 180 sec definito per l’esperimento: in entrambi i casi questo è codificato come punto di Tolleranza [t 3], ma solo nel caso in cui sia determinato dal bambino viene registrato come effettiva latenza di tolleranza.

- La fase di Recupero [t 4]

Il bambino viene aiutato a immergere nuovamente il braccio nella vasca con acqua temperatura ambiente per 120”. Vengono nuovamente somministrate le scale di percezione del dolore (CAS) e della sua dimensione affettiva (FAS) precisando al bambino di fare riferimento al momento di tolleranza del dolore o, in assenza di soglia del dolore, al momento immediatamente precedente all’uscita dalla vasca con acqua fredda al termine dei 3 minuti previsti.

Al termine della fase di recupero, il braccio del bambino viene asciugato, e vengono richieste precisazioni su eventuali effetti spiacevoli sperimentati nel corso della prova. In totale, la prova richiede all'incirca 45 minuti ca..

6.4 Misure di outcome

E' stata condotta un'indagine inter e intra gruppo per i due gruppi, sperimentale e di controllo, sulla base di parametri misurabili di risposta alla stimolazione doloroso sperimentale qui di seguito elencati.

La *percezione del dolore* è stata misurata determinata secondo i seguenti parametri:

- latenza di soglia (in sec) - tempo intercorrente tra il momento dell'immersione del braccio in acqua fredda [t 0], e la percezione - da parte del bambino - della prima chiara sensazione dolorosa [t 1];
- latenza di tolleranza (in sec) – tempo intercorrente tra il momento d'immersione del braccio [t 0], ed il momento in cui l'esposizione veniva interrotta o perché il dolore non era più tollerabile [t 3], o perché il soggetto - pur essendo in grado di mantenere il braccio all'interno della vasca - raggiungeva il tempo limite dell'esperimento, pari a 180 sec.

La *valutazione soggettiva di percezione del dolore* nel corso dell'esperimento è stata effettuata tramite strumenti utilizzati per l'età pediatrica:

- Coloured Analogue Scale [CAS] (McGrath et al., 1996): scala analogo-visiva colorata, validata per l'età pediatrica, utilizzata per misurare l'intensità del dolore percepito dal bambino al braccio.
 - Facial Affective Scale – FAS (McGrath, 1987): “scala con faccette” validata per l'età pediatrica, utilizzata per valutare la dimensione affettiva del dolore provato in momenti prestabiliti della prova ([t 0] – [t 3])
- Nel caso della Scala numerico-verbale [VRS] (0-10), non essendo questo strumento validato per l'età pediatrica, e avendolo manipolato nel corso della sperimentazione, si è ritenuto opportuno, in sede di revisione del piano di analisi, di non inserirlo nelle misure di outcome studiate -

La *reattività fisiologica durante l'induzione del dolore* è stata studiata attraverso la misurazione dei seguenti parametri emodinamici e pressori:

- Heart rate (HR): frequenza cardiaca [bpm]
- Stroke volume (SV): volume d'eiezione sistolica [ml], volume di sangue espulso dal ventricolo ad ogni battito
- Cardiac Index (CI): indice cardiaco [$l/min/m^2$], volume di sangue espulso dal ventricolo per minuto, è la risultante dell'output cardiaco indicizzato (corrisponde a $HR*SV$ e misura il volume di sangue espulso dal ventricolo ogni minuto)
- Systolic Arterial Pressure [SAP], Diastolic Arterial Pressure [DAP], Mean Arterial Pressure [MAP]: pressione arteriosa sistolica, diastolica e media [mmHg]

I parametri (HR, SV , CI, SVRI) sono stati rilevati attraverso l'uso del Physioflow secondo una sequenza di intervalli temporali così predefinita in fase di progettazione dello studio:

- ⇒ Baseline [t0]: valore medio in corrispondenza dei 30 sec finali della fase di adattamento;
- ⇒ Start [t1]: valore medio in corrispondenza dei 10 sec secondi iniziali dell'esposizione (immersione del braccio in acqua fredda);
- ⇒ Soglia [t2]: valore medio in corrispondenza dei 5 sec precedenti e dei 5 successivi al momento esatto in cui veniva segnalata la soglia del dolore;
- ⇒ Tolleranza [t3]: valore medio in corrispondenza dei 10 sec precedenti al momento della tolleranza al dolore o, in alternativa, all'interruzione del test (180 sec);
- ⇒ Recupero [t4]: valore medio in corrispondenza dei 30 sec finali della fase di recupero (re-immersione del braccio in acqua a temperatura ambiente).

Ciascuna delle suddette fasi è stata registrata e indicizzata tramite marker predefiniti sui file informatizzati prodotti dal Physioflow per ciascuna delle sessioni sperimentali, così da poter essere analizzata off-line.

La rilevazioni delle misure di pressione arteriosa (MAP, SAP, DAP) è stata invece effettuate nelle seguenti fasi:

- ⇒ Baseline (t0) - immersione del braccio in acqua a temperatura ambiente;
- ⇒ Start (t1) – inizio dell'esperimento (immersione del braccio in acqua fredda);
- ⇒ Recupero (t4) – re-immersione del braccio in acqua a temperatura ambiente alla fine dell'esperimento.

6.5 Influenza delle caratteristiche dei soggetti e dell'ambiente

E' stata studiata la possibile influenza sulla percezione del dolore di più caratteristiche soggettive dei partecipanti alla ricerca. In particolare sono state considerate le seguenti variabili:

- Anagrafiche: i bambini sono stati classificati in base età gestazionale, all'età reale, al sesso e all'ampiezza della plica cutanea del braccio;
- Neonatali: tipo di parto, gemellarità, peso di nascita e relativo percentile, Indice di Apgar al 1°, al 5° e al 10° minuto;
- Psicologiche: (a) punteggi riportati al CBCL nelle tre scale generali: Scala dell'internalizzazione (Σ sottoscale I,II,III) e Scala dell'esternalizzazione (Σ sottoscale VII e VIII), Scala totale (Σ di tutte le sottoscale).
(b) punteggi del Test dell'Ansia e della Depressione [TAD] (Newcomer, Barenbaum, Bryant, 1995), nelle sottoscale: Ansia e Depressione secondo la valutazione effettuata dal bambino; Ansia, Depressione e Disadattamento sociale, in base alle valutazioni del genitore.
- Ambientali in sede sperimentale: temperatura della stanza durante la conduzione dell'esperimento.

6.6 Piano di analisi

a) Popolazione

è stata condotta un'analisi descrittiva e statistica, attraverso t test e χ^2 , della composizione dei gruppi in relazione sia alle variabili anagrafiche che a quelle neonatali.

b) Setting

E' stata analizzata la correlazione statistica tra le variabili ambientali in sede sperimentale e le latenze di soglia e di tolleranza, al fine di escludere differenze significative nelle condizioni di setting tra i due gruppi.

c) Analisi della percezione del dolore

confronto dei valori di percezione del dolore inter e intragruppi, misurati sulle latenze di soglia e di tolleranza, intensità soggettiva percepita e valutazione emozionale del dolore, tramite t test per campioni indipendenti distinti per età attuale, sesso, età gestazionale, peso alla nascita e variabili neonatali. La valutazione soggettiva dell'intensità (misurata con CAS) e della dimensione affettiva del dolore (misurata con FAS) determinate dallo stimolo sperimentale si è svolta confrontando i valori rilevati in fase di baseline (t0) con quelli in fase di recupero (t4), tramite t test per misure ripetute.

d) Variabili neonatali nei due gruppi

Sono state indagate, all'interno del gruppo dei bambini ex pretermine, le possibili correlazioni statistiche tra la percezione del dolore e le seguenti variabili:

- durata del ricovero nel Reparto di Patologia Neonatale (in giorni).
- score secondo lo Snap-II e lo Snappe-II – Score for Neonatal Acute Physiology and SNAP- Perinatal Extension II – (Richardson D.K. et al., 2001): si tratta di un punteggio globale attribuito sulla base di valori fisiologici registrati entro le prime 12 ore di ricovero. Valutando la pressione arteriosa media, la più bassa temperatura corporea, il rapporto tra i valori di PO₂(mmHg) e di FIO₂ (%), il valore di pH più basso, la presenza di accessi epilettici e la diuresi, lo Snap II, integrato con l'estensione perinatale calcolata

sulla base dell'indice di Apgar al 5° minuto, del peso di nascita e del relativo percentile, attribuisce ad ogni soggetto un punteggio che, confrontato con i valori di calibrazione (Appendice 1), riflette il rischio di mortalità neonatale (Richardson D.K., 2001).

- numero di procedure invasive (inserimento di catetere venoso ombelicale, di catetere arterioso ombelicale, di catetere centrale, emogasanalisi escludendo quelli ottenuti da catetere, aspirazione, intubazione e relativi tentativi, inserimento di sondino nasogastrico, inserimento di catetere vescicale, drenaggio toracico, rachicentesi) a cui il neonato è stato sottoposto durante il ricovero alla nascita. Sebbene si riconosce che le procedure differiscano per l'intensità del dolore provocato, in assenza di basi empiriche per assegnare tale peso ad ogni procedura, il conteggio è stato usato come marker dell'esposizione acuta al dolore procedurale e di stress globale nei bambini (Mitchell A, 2002).

- intubazione (presente/assente).

- interventi chirurgici (presenti/assenti).

- numero di ricoveri successivi.

- terapia analgesica/sedativa (presente/assente).

- terapia cortisonica (presente/assente).

e) Reattività emodinamica allo stimolo sperimentale

Previa correzione degli artefatti¹ presenti nei tracciati emodinamici, è stata svolta un'analisi descrittiva della distribuzione dei valori per ciascun indice considerato (HR, SV, CI), calcolando il valore medio e le deviazioni standard dei periodi prescelti:

¹ i dati relativi ai tracciati corretti sono stati elaborati da un programma creato ad hoc da uno statistico del Servizio di Epidemiologia del Dipartimento di Pediatria, al fine di estrapolare i valori medi e le deviazioni standard per ciascun indice in ciascuna fase considerata.

Baseline (t0), Start (t1), Soglia (t2), Tolleranza (t3), Recupero (t4). Nel caso di mancata rilevazione di valori per un tempo corrispondente alla metà del periodo totale per ciascuna fase, come sopra descritto in *materiali e metodi*, i tracciati sono stati scartati: se, ad esempio, si stava analizzando la fase relativa alla tolleranza - di durata pari a 10", i valori dovevano essere presenti per almeno 5". Nel caso della fase di baseline e di recupero la cui durata ammontava a 30", tale periodo veniva esteso a 15".

Sugli stessi indici è stata effettuata un'analisi della varianza (ANOVA within subjects) a cinque livelli (corrispondenti alle cinque fasi). Dei valori pressori (MAP, SAP, DAP) è stato calcolato il valore medio e la deviazione standard nei tre momenti considerati: Baseline (t0); Start (t1) e Recupero (t4). E' stata inoltre elaborata un'ANOVA per misure ripetute a 3 livelli (corrispondenti alle fasi).

È stato quindi condotto un confronto, attraverso ANOVA e Regressione Lineare, delle misure di reattività cardiovascolare espresse dai due gruppi e in relazione all'età gestazionale, al peso neonatale e alle altre variabili neonatali considerate. Infine è stato condotto un confronto intragruppi per indagare l'effetto della variabile sesso.

f) Analisi delle variabili psicologiche

I punteggi espressi dai due gruppi sono stati indagati attraverso t test per escludere possibili differenze inter e intragruppi.

Sono state inoltre indagate le possibili correlazioni tra i punteggi nelle sottoscale dei due test e le latenze di soglia e tolleranza.

6.7 Numerosità del campione

In assenza in letteratura di ricerche utili alla definizione di un campione sperimentale rappresentativo della sottopopolazione pediatrica in esame nel presente studio, il numero di soggetti da testare è stato definito considerando quanto recuperato nel recente lavoro condotto da Herman e colleghi (2006), la cui numerosità è stata ripresa e implementata.

Capitolo 7: RISULTATI

7.1 Popolazione

Alla ricerca hanno partecipato complessivamente 145 bambini: 87 ex prematuri e 58 nati a termine.

Il gruppo sperimentale è composto da 87 bambini nati prematuri di età compresa tra i 10 anni (120 mesi) e 10 anni, 11 mesi e 30 giorni (131 mesi e 30 giorni). Sono bambini nati tra la ventitreesima e la trentasettesima settimana di età gestazionale compiuta, ovvero entro 259 giorni dall'ultima mestruazione materna e/o dalle prime ecografie secondo la definizione dell'O.M.S.. L'età media del campione ex pretermine è di 124,52 mesi (dev.st. 3,71); l'età gestazionale media alla nascita era di 32,62 settimane.

Di questi bambini il 44,83% (n=39) sono maschi, il 55,17% (n=48) femmine: i bambini ex pretermine avevano un e.g. media di 33,13 settimane (dev.st. 2,58); le bambine un e.g. media di 32,21 settimane (dev.st. 3,11).

Il gruppo di controllo è composto da 58 bambini nati a termine, di età media pari a 125,46 mesi (dev. st. 4,31). L'età gestazionale media alla nascita dei bambini del gruppo di controllo era di 39,41 settimane (dev.st. 1,13).

Di questi bambini il 43,11% (n=25) sono maschi, il 56,89% (n=33) femmine: i bambini nati a termine avevano un e.g. media di 39,13 settimane (dev.st. 1,18); le bambine un e.g. media di 39,64 settimane (dev.st. 1,06).

In Tabella 1 vengono riassunte le variabili descrittive sopra esposte, integrate con ulteriori variabili neonatali da noi considerate: tipo di parto; peso alla nascita; punteggio Apgar² al 1°, al 5° e al 10° minuto.

Tabella 1: confronto delle caratteristiche anagrafiche e neonatali nei due gruppi.

Variabile	Gruppo		N	media	ds	test	p-value
Età attuale (in mesi)	pretermine		87	124,52	3,71	t test -1,41	p 0,16
	a termine		58	125,46	4,31		
Sesso	pretermine	maschi	39 (44,83%)	-	-	χ^2 0,031	p 0,8383
		femmine	48 (55,17%)	-	-		
	a termine	maschi	25(43,11%)	-	-		
		femmine	33(56,89)	-	-		
Età Gestaz.	pretermine		87	32,62	2,91	t test -15,97	p 0,000
	a termine		51	39,41	1,13		
Parto Eutocico	pretermine		14	-	-	χ^2 29,165	p 0,0001
	a termine		37	-	-		
Parto Cesareo	pretermine		69	-	-		
	a termine		14	-	-		
Peso alla Nascita	pretermine		85	1816,93	643	t test -15,0499	p 0,0000
	a termine		51	3299,02	366		
Apgar 1	pretermine		82	5,09	5,47	t test -6,3618	p 0,0000
	a termine		44	8,12	7,63		
Apgar 5	pretermine		81	7,53	1,53	t test -7,7538	p 0,0000
	a termine		46	9,39	0,71		
Apgar 10	pretermine		19	8,42	1,43	t test -5,4841	p 0,0000
	a termine		28	9,92	0,26		

² Punteggio Apgar: indice utilizzato per l'efficienza delle funzioni vitali primarie del neonato subito dopo il parto; si ottiene dalla somma dei punti (range 0-2) assegnati al battito cardiaco, alla respirazione, al tono muscolare, ai riflessi di risposta al catetere naso faringeo, al colore della pelle. Il punteggio massimo raggiungibile è quindi 10; tra 4 e 6 punti il neonato è considerato moderatamente a rischio, bisognoso di assistenza medica, e il test viene ripetuto a 5 e a 10 minuti; sotto i 4 punti il è considerato gravemente a rischio e necessitano di intervento medico immediato.

In sede di sperimentazione è stata inoltre misurata la plica cutanea: la plica del gruppo ex prematuri è, in media, di 13,40 mm (dev.st. 5,80), quella del gruppo di controllo è, in media, di 13,92 mm (dev.st. 5,78); l'analisi statistica con t test consente di considerare le due misurazioni sovrapponibili ($t = -0,5273$; $p = 0,5988$).

7.1.1 Setting

Dall'analisi dei dati relativi al setting sperimentale, si rileva quanto segue:

- la temperatura media dell'acqua nella vasca durante l'induzione dello stimolo doloroso è stata di 10,1° C (dev. st. 0,09; range 10,00 – 10,5). Gli esperimenti avevano inizio quando la temperatura raggiungeva i 10° C esatti.
- La temperatura della vasca più piccola, utilizzata per le fasi di adattamento e recupero era compresa tra 26,0°C e 28,0° C.
- La temperatura media della stanza in cui si sono svolti gli esperimenti è stata di 24,05° C durante le sessioni con i bambini ex pretermine; di 22,46° C durante le sessioni con i bambini (Tabella 2). Nonostante questa differenza di temperatura risulti statisticamente significativa al test ($t = 4,3593$; $p = 0,0000$), le analisi di regressione lineare per valutare la sua possibile influenza sulle misure delle latenze di soglia ($F_{59,60}=1,24$; $p=0,21$) e tolleranza ($F_{64,75}=1,31$; $p=0,1269$) nei due gruppi non sono risultate statisticamente significative.

Tabella 2: caratteristiche ambientali del setting

Variabile	Gruppo	N	media	ds	test	p
Temp. Stanza	pretermine	86	24,05° C	2,47	t test 4,3593	p 0,0000
	a termine	55	22,46° C	1,34		
Temp. Acqua	pretermine	86	10,14° C	0,08	t test -0,4906	p 0,6245
	a termine	57	10,15° C	0,09		

7.2 Percezione del dolore nei due gruppi

Nel gruppo degli ex pretermine il punto di soglia del dolore [t 2] è stato segnalato dall'83,9% dei bambini (n = 73), mentre il 16,1% non l'ha segnalato (n = 14). Il punto di tolleranza del dolore [t 3], entro i 180 secondi previsti dall'esperimento, è stato segnalato dall'62,1% dei bambini (n = 54); il 27,6% dei bambini (n = 24) segnala la soglia del dolore ma non la tolleranza; infine il 10,3% dei bambini del gruppo sperimentale (n = 9) non segnala né soglia né tolleranza per tutto il tempo della prova (Tabella 3).

Nel gruppo sperimentale il raggiungimento della soglia del dolore [t 2] è avvenuto in un tempo medio di 32,9 sec (dev.st. 32,1; range 0 – 138 sec); il tempo di latenza relativo alla tolleranza del dolore [t3] è stato di 105,3 sec (dev.st. 63,6; range 12-179 sec) (tab 4).

Nel gruppo dei nati a termine il punto di soglia del dolore [t 2] è stato segnalato dall'84,4% dei bambini (n = 49), mentre il 15,5% non l'ha segnalato (n = 9). Il punto di tolleranza del dolore [t 3], entro i 180 secondi previsti dall'esperimento, è stato segnalato dal 70,7% dei bambini a termine (n = 41); il 17,2% dei bambini (n = 10) segnala la soglia del dolore ma non la tolleranza; infine il 12,1% dei bambini (n = 7) non segnala né la soglia né la tolleranza del dolore per tutto il tempo della prova (Tabella 3).

Nei bambini nati a termine il raggiungimento della soglia del dolore [t 2] è avvenuto in un tempo medio di 24,2 sec (dev.st. 22,17; range 3 – 115 sec); il tempo di latenza relativo alla tolleranza del dolore [t 3] è stato di 98,4 sec (dev.st. 64,5; range 14 – 179 sec); infine il 12,1% dei bambini del gruppo campione (n=7) non segnala né soglia né tolleranza per tutto il tempo della prova (Tabella 4).

Tabella 3: confronto della risposta alla stimolo doloroso nei due gruppi

Latenze espresse entro 180 sec	Prematuri (N=87)	A termine (N=58)
Soglia e tolleranza	56,3% (n=49)	67,2% (n=39)
Soglia senza Tolleranza	27,6% (n=24)	17,2% (n=10)
Tolleranza senza soglia	7,7% (n=5)	3,4% (n=2)
Nessuna Latenza	10,3% (n=9)	12,1% (n=7)

7.2.1 Percezione del dolore: confronto intergruppi

L'analisi statistica delle latenze medie di soglia, condotta con t test per gruppi indipendenti, ha mostrato una tendenza alla significatività statistica: i bambini ex pretermine presentano una latenza di soglia del dolore mediamente superiore rispetto ai nati a termine: media ex pretermine 32,9 sec Vs media nati a termine 24,2 sec; $t=1,652$; $p=0,101$ (Tabella 4)

Dall'analisi statistica delle latenze medie di tolleranza, condotta con le stesse modalità utilizzate per quelle di soglia, non è invece emersa una differenza significativa tra i due gruppi: media ex pretermine 105,3 sec Vs 98,5 media nati a termine sec; $t=0,6262$; $p=0,5322$ (Tabella 4).

Tabella 4: analisi delle latenze medie

Gruppo	Valori	Soglia (in sec)	Tolleranza (in sec)
ex pretermine	media	32,9	105,3
	dev st	32,1	63,3
nati a termine	media	24,2	98,5
	dev st	22,2	64,4
		t test 1,6529	t test 0,6262
		p 0,101	p 0,5322

Per quanto riguarda le dimensioni affettiva e sensoriale del dolore, misurate rispettivamente con la Scala a Faccette (FAS) e con la Scala Analogo Visiva Colorata (CAS), sia in fase di adattamento [t 0] , sia immediatamente dopo il raggiungimento del punto di tolleranza del dolore (nei primi istanti della fase di recupero [t 4]), l'analisi tramite t test ha rilevato una differenza significativa rispetto alla sola dimensione sensoriale (Tabella 5): subito dopo il raggiungimento della tolleranza i bambini ex pretermine descrivono il dolore provato in maniera significativamente meno intensa rispetto ai bambini nati a termine.

Tabella 5: analisi delle dimensioni affettiva e sensoriale della risposta allo stimolo dolorso

	FAS iniziale		CAS iniziale		FAS finale		CAS finale	
	media	ds	media	ds	media	ds	media	ds
ex pretermine	0,26	(0,18)	0,62	(0,19)	0,18	(0,44)	4,4	(2,17)
nati a termine	0,26	(0,19)	0,63	(0,17)	0,21	(0,33)	5,84	(2,51)
	t test -0,0929		t test -0,3902		t test -0,5012		t test -3,4938	
	p 0,9261		p 0,697		p 0,6170		p 0,0006	

7.3 Analisi delle variabili neonatali nei bambini ex pretermine

Due delle cartelle cliniche risalenti ai ricoveri post-partum presso il Reparto di Patologia Neonatale dei bambini ex pretermine sono risultate irreperibili. Dall'indagine condotta sulle 85 cartelle reperite è stato possibile estrapolare quanto segue:

- I ricoveri dei bambini ex pretermine sono durati in media 27,58 giorni (dev.st. 23,41 gg; range 2 – 120 gg);
- Il numero di procedure subite in media durante il primo ricovero è stato di 13,67 (dev.st. 21,22; range 0 – 164);
- Il punteggio Snapp II² calcolato è risultato essere in media pari a 12,52 (dev.st. 12,01; range 0 – 49), mentre il punteggio Snappe II³ è risultato essere in media pari a 18,32 (dev.st. 17,34; range 0 – 49).

E' stata effettuata un'analisi statistica della correlazione tra l'età gestazionale di questi 85 bambini ex pretermine e le variabili neonatali: Apgar 1', Apgar5', Apgar' 10, durata del primo ricovero, peso neonatale, numero di altri ricoveri, punteggi SNAP II e SNAPPE II, numero di procedure invasive (Tabella 6).

² SNAP II: Score for Neonatal Acute Physiology: punteggio globale basato su valori fisiologici registrati entro le prime 12 ore di ricovero: la pressione arteriosa media, la più bassa temperatura corporea, il rapporto tra i valori di PO₂(mmHg) e di FIO₂ (%), il valore di pH più basso, la presenza di accessi epilettici e la diuresi; è un indice della gravità delle condizioni di salute neonatali.

³ SNAP Perinatal Extension II: integrazione del punteggio SNAP II con l'estensione perinatale, calcolata sulla base dell'indice di Apgar a 5 minuti, del peso di nascita e del relativo percentile; attribuisce al soggetto un punteggio che, confrontato con i valori di calibrazione (Appendice 1), riflette il rischio di mortalità neonatale (Richardson D.K. et al., 2000).

Si è osservato come quasi tutti gli indici correlino in maniera significativa con l'e.g., in alcuni casi con correlazione di segno negativo come per le due tipologie di punteggio Snappe, la durata del ricovero e il numero di procedure invasive. Si rileva assenza di correlazione significativa solo per il punteggio Apgar 10' e, come prevedibile, per la numerosità di ricoveri successivi nel corso della crescita.

Si è quindi proceduto ad indagare possibili correlazioni tra le latenze di soglia e tolleranza e alcuni degli indici neonatali descritti per il gruppo dei bambini ex pretermine: non si sono presentate correlazioni statisticamente significative tra le latenze di soglia e di tolleranza con il numero di procedure invasive subite, né con la presenza o assenza di interventi chirurgici, né con la durata del ricovero post-partum, né con i punteggi SnapII e SnappeII.

Tabella 6: correlazioni tra età gestazionale e variabili neonatali nel gruppo ex pretermine

variabili neonatali	obs	media	ds	r	Significatività
Apgar 1'	82	5,9	1,98	0,4577	p 0,0001
Apgar 5'	81	7,53	1,53	0,314	p 0,0043
Apgar 10'	19	8,42	1,43	0,1092	p 0,6562
Durata primo ricovero	81	27,58	23,41	-0,7961	p 0,0001
Peso Neonatale	85	1816,93	643,02	0,6994	p 0,0001
Numero ricoveri	81	0,56	1,36	-0,1045	p 0,3532
Snap II	71	12,52	12,01	-0,4818	p 0,0001
Snappe II	69	18,32	17,34	-0,5221	p 0,0001
Procedure Invasive	81	13,67	21,22	-0,5542	p 0,0001

A fronte di questi dati si è cercato di approfondire, attraverso un'analisi della varianza (ANOVA), l'effetto del numero di procedure invasive subite dai bambini: gli ex pretermine sono stati quindi suddivisi in 3 classi:

- classe A = 0-10 procedure (51 bambini)

- classe B = 11-19 procedure (17 bambini)
- classe C > 20 procedure (13 bambini)

Da quest'indagine non sono emersi risultati significativi, né per quanto riguarda la latenza di soglia ($F_{2,65} = 0,03$; $p = 0,9714$), né per la latenza di tolleranza ($F_{2,77} = 0,75$; $p = 0,4755$) (Tabella 7).

Tabella 7: Analisi dell'effetto del numero di procedure sulle latenze

		A 0-10 procedure	B 11-19 procedure	C > 20 procedure
Soglia (in sec)	media	32,1	32,7	34,6
	ds	33,1	32,1	21,7
	ANOVA	$F_{2,65} = 0,03$ $p = 0,9714$		
Tolleranza (in sec)	media	108,7	92,1	120,3
	ds	65,5	62,7	57,5
	ANOVA	$F_{2,77} = 0,75$ $p = 0,4755$		

La correlazione tra l'età gestazionale dei bambini ex pretermine e le latenze di soglia ($r = 0,2723$; $p = 0,0198$) e di tolleranza ($r = -0,2235$; $p = 0,0397$) è risultata statisticamente significativa, e di segno negativo in entrambi i casi, ovvero al crescere dell'età gestazionale diminuiscono le sia le latenze di soglia che quelle di tolleranza del dolore.

Il gruppo dei bambini ex pretermine è stato quindi diviso in 3 sottogruppi (tabella 8 e 9) secondo la classificazione del livello di prematurità per età gestazionale

- I°: e.g. < 29° settimana;
- II°: e.g. compresa tra 29° – 31° settimana;
- III°: e.g. compresa tra la 32° e la 37° settimana gestazionale.

L'analisi della varianza (ANOVA) per indagare la possibile influenza della variabile e.g. così ripartita, sulle latenze di soglia e tolleranza del dolore, non ha dato risultati significativi né per la soglia ($F_{2,70} = 2,52$; $p = 0,0881$) né per tolleranza del dolore ($F_{2,82} = 1,50$; $p = 0,2303$).

Si osserva comunque un trend sovrapponibile al dato espresso dalla correlazione di segno negativo sopra riportata, che indicava una diminuzione dei tempi di soglia e tolleranza del dolore con il crescere dell'età gestazionale.

Tabella 8: analisi dei tempi di soglia nel gruppo ex pretermine per classi di e.g.

		I° e.g.< 29°	II° 29°- e.g. - 31°	III° 37°< e.g. ≥32°
		N=6	N=17	N=50
Soglia (in sec)	media	47,1	44,3	27,3
	ds	44,0	35,29	28,48
	ANOVA	F 2,70 = 2,52 p = 0,0881		

Tabella 9: analisi dei tempi nel gruppo ex pretermine di tolleranza per classi di e.g.

		I° e.g.< 29°	II° 29°- e.g. - 31°	III° 37°< e.g. ≥32°
		N = 7	N=21	N=57
Tolleranza (in sec)	media	135,4	115,71	97,8
	ds	61,74	66,55	61,73
	ANOVA	F 2,82 = 1,50 p = 0,2303		

7.4 Analisi delle variabili neonatali: confronto intergruppi

A fronte dei dati relativi alle variabili neonatali sopra descritti, si è proceduto con un'ulteriore analisi di alcune di queste variabili al fine di confrontare la loro influenza nei due gruppi considerati, il gruppo sperimentale dei bambini ex pretermine e il gruppo di controllo dei bambini nati a termine.

7.4.1 Variabile considerata: età gestazionale

Per valutare l'incidenza dell'età gestazionale sulle latenze di soglia e tolleranza espresse dai due gruppi si è suddiviso il campione complessivo di 145 bambini, composto dai due gruppi insieme, in tre classi di età gestazionale: A ≥ 40 , B = 39 – 32 , C < 32 settimane.

L'analisi della varianza (ANOVA) delle latenze di soglia effettuata (Tabella 10) mostra una differenza significativa tra le tre classi ($F_{2,119} = 4,79$; $p = 0,0100$): si rileva nuovamente un andamento decrescente caratterizzato, da un diminuire dei tempi di soglia al crescere dell'età gestazionale. Attraverso lo studio della regressione lineare si può inoltre aggiungere che i bambini con età gestazionale inferiore alle 32 settimane, con un coefficiente di 23.04 sec ($t = 2,91$ $p = 0,004$), presentano un differenza statisticamente significativa rispetto agli altri due gruppi.

Tabella 10: analisi dei tempi di soglia di tutti i bambini per classi di e.g.

Soglia	e.g. < 32 settimane	e.g. = 32-39 settimane	e.g. ≥ 40 settimane
n bambini	23	72	27
media	45,1	27,2	22,1
ds	36,72	26,71	21,85

L'analisi della varianza (ANOVA) delle latenze di tolleranza condotta per le latenze medie di tolleranza (tabella 11) sulle tre classi di età gestazionale non ha dato un risultato significativo ($F_{2,140}=1,70$ $p=0,1857$), sebbene appaia molto interessante l'andamento a "U" presentato dal trend dei valori medi descritto in tabella 11. Lo studio della regressione lineare non ha invece portato a individuare differenze significative attribuibili a nessuna delle tre classi.

Tabella 11: analisi dei tempi di soglia di tutti i bambini per classi di e.g.

Tolleranza	e.g. < 32 settimane	e.g. = 32-39 settimane	e.g. ≥ 40 settimane
N	28	84	31
media	120,6	95,4	105,4
ds	64,8	61,5	66,8

7.4.2 Variabile considerata: peso alla nascita

L'analisi della correlazione tra le latenze di soglia e di tolleranza ed il peso alla nascita è risultata significativa e negativa nel solo gruppo dei bambini ex pretermine (Tabella 12) . Ciò significa che al crescere del peso alla nascita nei bambini ex pretermine si assiste a una concomitante diminuzione sia delle latenze di soglia che di quelle di tolleranza del dolore.

Tabella 12: correlazione tra latenze e peso alla nascita nei due gruppi

	peso alla nascita ex pretermine		peso alla nascita nati a termine	
	N=71		N=43	
Soglia	r - 0,2531	p 0,0484	r 0,2177	p 0,1577
	N=83		N=50	
Tolleranza	r - 0,2274	p 0,0387	r 0,1849	p 0,1939

Per valutare l'incidenza del peso alla nascita sulle latenze di soglia e tolleranza espresse dai due gruppi si è suddiviso il campione complessivo di 145 bambini, composto dai due gruppi insieme, in quattro classi di peso alla nascita, le prime tre secondo le definizioni di basso peso neonatale fornite dall'OMS e una quarta composta da bambini con adeguato peso alla nascita:

- Extremely Very Low Birth Weight: 500 gr < peso alla nascita < 1000 gr;
- Very Low Birth Weight: 1000 gr < peso alla nascita < 1500 gr;
- Low Birth Weight: 1500gr < peso alla nascita < 2500 gr;
- nonLow Birth Weight: peso alla nascita \geq 2500gr.

Nella classi ELBW (n=7) e VLBW (n=21) sono rientrati esclusivamente bambini ex pretermine, nella classe LBW (n=44) sono rientrati sia bambini ex pretermine (n=42) che

bambini nati a termine (n=2); nella classe nonLBW (n=64) sia bambini ex pretermine (n=15) che bambini nati a termine (n=49).

E' stata condotta una regressione lineare per valutare come varino le latenze di soglia e tolleranza in base alle quattro classi di peso appena descritte.

Per le latenze di soglia, l'analisi della regressione lineare rileva una differenza tendente alla significatività nel caso dei bambini LBW, con un coefficiente di $-22,8''$ ($t=-1,84$; $p=0,06$), e una differenza significativa nel caso dei bambini nonLBW con un coefficiente di $-29,4''$ ($t=-2,42$; $p=0,017$), rispetto ai tempi di soglia dei bambini VLBW e EVLBW (Tabella 13).

Per le latenze di tolleranza (Tabella 14), l'analisi della regressione lineare rileva una differenza tendente alla significatività nel caso dei bambini nonLBW con un coefficiente di $-47,29''$ ($t=-1,76$; $p=0,08$).

Tabella 13: tempi medi di soglia per classi di peso alla nascita

classe di peso	N	soglia in sec	
		media	ds
EVLBN	7 (m=1 f=6)	52,3	38,8
VLBW	15 (m=4 f=11)	46,5	39,8
LBW	38 (m=19 f=19)	29,5	29,9
nonLBW	56 (m=31 f=25)	22,9	21,5

Tabella 14: tempi medi di tolleranza per classi di peso alla nascita

classe di peso	N	tolleranza in sec	
		media	d.s.
EVLBN	7 (m=1 f=6)	144,2	45,1
VLBW	21 (m=6 f=14)	126,3	67,9
LBW	44 (m=21 f=23)	99,8	61,2
nonLBW	64 (m=33 f=31)	96,9	63,5

7.4.3 Variabile considerata: percentile per peso alla nascita

La variabile percentile per peso alla nascita è stata costruita sulla base delle tavole standardizzate e approvate dalla Società Italiana di Neonatologia (Rubaltelli F., 1999; Appendice 2). I percentili sono poi stati raggruppati nelle seguenti cinque classi, sulla base delle quali sono stati suddivisi il gruppo sperimentale e quello di controllo:

- $A \leq 10^{\circ}$ percentile;
- $B = 11^{\circ}$ - 25° percentile;
- $C = 26^{\circ}$ - 50° percentile;
- $D = 51^{\circ}$ - 75° percentile;
- $E > 75^{\circ}$ percentile;

E' stata condotta un'analisi della regressione lineare per di valutare l'incidenza sulle latenze di soglia e tolleranza delle seguenti variabili: gruppo (ex pretermine Vs a termine); interazione tra gruppo di appartenenza e classe di percentile (gruppo * percentile); sesso.

In relazione alle latenze di soglia (Tabella 15) la regressione lineare rileva un dato significativo rispetto all'interazione gruppo * percentile: i bambini ex pretermine appartenenti alla classe compresa tra il 51° e il 75° percentile raggiungono la soglia del dolore in un tempo significativamente più lungo rispetto agli altri ex pretermine , con un coefficiente di 48,7 sec ($t=2.29$; $p=0.024$).

Sebbene non significativa, con un coefficiente di -13,4 sec ($t=-1,41$; $p=0,161$), si rileva un'evidente diminuzione delle latenze medie di soglia sia negli ex pretermine che nei nati a termine appartenenti alla classe B (11° - 25° %ile).

Non sono invece emersi risultati significativi in relazione alla variabili gruppo e sesso.

Tabella 15: tempi medi di soglia per cinque classi di percentile di peso alla nascita

soglia		A ≤ 10°	B 11°-25°	C 26°-50°	D 51°-75°	E > 75°
ex pretermine	N	40(m=14 f=16)	13(m=8 f=5)	6 (m=4 f=2)	2 (m=1 f=1)	8 (m=6 f=2)
	media	33,7	20,5	26,7	82,5	44,6
	ds	32,3	19,6	17,8	78,5	41,4
nati a termine	N	2(m=1 f=1)	3(m=1 f=2)	19(m=12f=7)	9(m=3 f=6)	9(m=4 f=5)
	media	29,5	13,7	22,6	30,2	27,7
	ds	14,8	9,4	21,6	33,8	18,4

In relazione alle latenze di tolleranza (Tabella 16), la regressione lineare rileva come dato significativo l'appartenenza al sesso femminile: con un coefficiente di 32.4 sec ($t = 2,90$ $p = 0.005$) i tempi medi di tolleranza del dolore sono più lunghi nelle femmine rispetto ai maschi.

Il trend dei valori medi di tolleranza espressi dai due gruppi risulta assimilabile a quanto osservato in precedenza (si veda par. 8.4.1): le latenze medie di tolleranza si distribuiscono secondo un andamento a "U".

Tabella 16: tempi medi di tolleranza per cinque classi di percentile di peso alla nascita

tolleranza		A ≤ 10°	B 11°-25°	C 26°-50°	D 51°-75°	E > 75°
ex pretermine	N	48(m=18f=30)	14(m=8 f=6)	7 (m=5 f=4)	2(m=1 f=1)	10(m=6 f=4)
	media	112,5	70,09	85,3	180,1	115,4
	dev st	63,8	58,2	52,4	0	68,6
nati a termine	N	3 (m=1 f=2)	4(m=1 f=3)	21(m=13f=8)	11(m=3 f=8)	10(m=4 f=6)
	media	97,1	51,2	102,8	116,9	107,7
	dev st	74,7	18,9	62,8	72,5	67,7

Alla luce di quanto sopra esposto, per raffinare l'indagine sulla variabile percentile di peso neonatale, si è suddiviso ciascun gruppo, sperimentale e diconrollo, nelle seguenti tre classi: A ≤ 10° %ile; B compresi tra l'11° e il 25° %ile; C > 25° %ile.

La regressione lineare condotta sui dati così raggruppati non rileva differenze significativo rispetto ai tempi di soglia (Tabella 17).

Tabella 17: tempi medi di soglia per tre classi di percentile di peso alla nascita

soglia		A ≤ 10° %ile	B =11° - 25 ° %ile	C > 25%ile
ex pretermine	N	40 (m=18 f=22)	13 (m=8 f=5)	20 (m=12 f=8)
	media	33,7	20,5	42,6
	ds	32,3	19,6	40,4
nati a termine	soglia	3 (m=1 f=2)	4 (m=1 f=4)	42 (m=20 f=22)
	media	29,5	13,7	25,7
	ds	14,8	9,4	23,9

Rispetto ai tempi di tolleranza (Tabella 18) la regressione lineare rileva che l'appartenenza al gruppo ex prematuri incide significativamente, con un coefficiente di - 65.46 sec ($t = 2,04$; $p = 0,043$): le latenze di soglia sono nettamente più lunghe nei bambini ex pretermine rispetto ai bambini nati a termine.

Significativa risulta anche l'appartenenza al sesso femminile nei due gruppi, con un coefficiente di 33,89 sec ($t = 3,07$ $p = 0,003$) i tempi medi di tolleranza del dolore sono più lunghi nelle femmine rispetto ai maschi.

Tabella 18: tempi medi di tolleranza per tre classi di percentile di peso alla nascita

tolleranza		A ≤ 10° %ile	B =11° - 25 ° %ile	C > 25%ile
ex pretermine	N	48 (m=18 f=30)	14 (m=8 f=6)	20 (m=12 f=8)
	media	112,5	85,3	105,8
	ds	63,8	58,2	66,4
nati a termine	N	3 (m=1 f=2)	4 (m=1 f=4)	42 (m=20 f=22)
	media	97,1	51,2	107,7
	ds	74,7	18,9	65,1

Per verificare eventuali differenze sull'uso di trattamenti analgesici nel gruppo degli ex pretermine suddiviso in tre classi (A < 10° %ile; B=11°-25° %ile; C> 25° %ile) è stato effettuato test χ^2 : le differenze tra le tre classi è risultata significativa ($\chi^2=5,87$; $p=0,05$) e i bambini ex pretermine nati sotto il 10°%ile risulta essere la meno sottoposta a sedazione (Tabella 19).

Tabella 19: confronto tra classi di percentile di peso alla nascita per numero trattamenti analgesici ricevuti

	A < 10° %ile	B 11°- 25° %ile	C > 25° %ile
	N=49	N=14	N=6
analgesici	14,29% (n = 7)	42,86% (n = 6)	31,25% (n = 5)
non analgesici	85,71% (n = 42)	57,14% (n = 8)	68,75% (n =11)
$\chi^2 = 5,87$ p = 0,05			

7.5 Percezione del dolore e variabili neonatali: confronto intragruppi

per sesso

Sulla scorta di quanto emerso nei paragrafi precedenti, si è ritenuto opportuno approfondire l'influenza dalla variabile sesso sulla percezione del dolore rilevata nei due gruppi.

Prima di procedere con la descrizione delle latenze medie di soglia e tolleranza espresse dai bambini e dalle bambine appartenenti ai due gruppi, vengono riportati i risultati dell'analisi statistica, svolta con t test, al fine di sondare le possibili differenze di peso alla nascita ed età gestazionale nei due sessi in ciascuno dei due gruppi (Tabella 20).

Le femmine ex pretermine presentano un peso alla nascita significativamente inferiore rispetto a quello dei maschi ($t= 4,0505$; $p=0,0001$) e risultano in numero significativamente maggiore rispetto ai maschi ($t=-2.83$ $p=0.005$) nella suddivisione per classi di peso alla nascita (si precedentemente descritte nelle tabelle 13 e 14).

Per quanto riguarda l'età gestazionale, non si rileva una differenza significativa tra maschi e femmine ($t=1,4782$; $p=0,1431$);

Tra i maschi e le femmine nati a termine invece non si rilevano differenze significative né rispetto al peso alla nascita ($t= 0,0930$; $p= 0,9263$) né rispetto all'età gestazionale ($t= -1,6315$; $p = 0,1092$).

Non risultano differenze significative in nessuna delle distribuzioni di percentile di peso alla nascita nei due gruppi, così come in nessuna delle variabili neonatali relative ai bambini ex pretermine esaminate nei paragrafi precedenti (durata del ricovero post partum; procedure invasive subite; presenza o assenza di interventi chirurgici; terapie analgesiche; punteggi Apgar; punteggi SnapII e SnappeII).

Tabella 20: caratteristiche neonatali nei due gruppi confrontate per sesso

Variabile	Gruppo		N	media	dev st	test	p-value
Peso alla Nascita	ex pretermine	m	38	2105,76	638,73	t test 4,0505	P 0,0001
		f	47	1583,4	549,78		
	nati a termine	m	22	3304,54	273,93	t test 0,0930	p 0,9263
		f	29	3294,83	427,35		
Età Gestaz.	ex pretermine	m	39	33,13	2,58	t test 1,4782	p 0,1431
		f	48	32,21	3,11		
	nati a termine	m	23	39,13	1,18	t test -1,6315	p 0,1092
		f	28	39,64	1,06		

I tempi di soglia di maschi e femmine ex pretermine risultano statisticamente sovrapponibili secondo l'analisi condotta attraverso t test ($t=0,1034$; $p=0,9179$). Nel caso invece delle latenze di tolleranza i maschi esprimono tempi medi significativamente più brevi rispetto alle femmine ($t= -2,5801$; $p= 0,0116$).

Un dato analogo si rileva anche nel gruppo dei bambini nati ai termine: le latenze di soglia risultano statisticamente sovrapponibili tra maschi e femmine ($t=-0,1946$ $p=0,8466$), mentre i tempi di tolleranza dei maschi tendono a essere significativamente inferiori di quelli delle femmine ($t = -1,9513$; $p = 0,056$).

In Tabella 21 e in Tabella 22 riportiamo i dati riassuntivi dei valori medi delle latenze espresse dai bambini e dalle bambine nei due gruppi

Tabella 21: analisi delle latenze espresse dai due sessi negli ex pretermine

	Soglia bambini ex pretermine		Tolleranza bambini ex pretermine	
	maschi = 34	femmine = 39	maschi = 39	femmine = 46
media	33,32	32,54	86,69	121,11
dev. st.	33,45	31,37	59,3	62,91
t test	0,1034		-2,5801	
p value	0,9179		0,0116	

Tabella 22: analisi delle latenze espresse dai due sessi nei nati a termine

	Soglia bambini a termine		Tolleranza bambini a termine	
	maschi = 23	femmine = 26	maschi = 25	femmine = 33
media	23,52	32,54	86,69	121,11
dev. st.	21,12	31,37	59,3	62,91
t test	-0,1946		-1,9513	
p value	0,8466		0,056	

7.6. Analisi delle variabili emodinamiche⁴: confronto inter e intra gruppi

7.6.1 Composizione dei due gruppi

Composizione del gruppo ex pretermine: 73 rilevazioni emodinamiche valide.

Dagli 87 bambini ex pretermine studiati, è stato necessario escluderne 14 a causa di bias associati ad almeno il 50% dei valori in almeno una delle cinque fasi della prova: abitazione [t0], start [t1], punto di soglia del dolore [t2], punto tolleranza del dolore [t3], recupero[t4]. Cinque bambini sono stati scartati per bias in una sola fase; quattro bambini sono stati scartati bias in due fasi; due bambini sono stati scartati per bias in tre fasi; tre bambini sono stati scartati bias in quattro fasi.

Composizione del gruppo nati a termine: 46 rilevazioni emodinamiche valide.

Dei 58 bambini nati a termine è stato necessario escludere: 4 bambini per bias in una sola fase; 3 bambini per bias in due fasi; 1 bambino per bias in quattro fasi.

7.6.2 Confronto tra bambini ex pretermine e bambini nati a termine

Il confronto, effettuato attraverso ANOVA, tra bambini ex pretermine e bambini a termine in relazione alle variabili emodinamiche HR, SV, CI, non ha prodotto risultati statisticamente significativi in relazione al fattore gruppo: l'andamento delle tre variabili nei due gruppi è sovrapponibile (HR: $F_{1,588}=0,00$ $p=0,970$; SV: $F_{1,588}=0,31$ $p=0,576$; CI: $F_{1,588}=0,66$ $p=0,4165$). Si riscontrano variazioni significative nell'andamento delle singole variabili dei due gruppi attraverso le 5 fasi della prova: (HR: $F_{1,588}=13,49$; $p=0,0000$; SV: $F_{1,588}=5,99$; $p=0,0001$; CI: $F_{1,588}=8,06$; $p=0,0000$).

In ciascuno dei due gruppi si può osservare (Tabella 23) un incremento, in fase di start t 1, dei valori medi degli indici emodinamici studiati. Similmente, in fase di recupero t 4, si osserva in una tendenza all'allineamento ai valori medi iniziali.

Tabella 23: confronto tra valori medi degli indici emodinamici registrati nei due gruppi fase per fase

				t0	t1	t2	t3	t4
HR	ex pretermine	(N=73)	media	90,31	103,01	82,34	98,38	89,12
	a termine	(N=46)	media	89,15	101,98	81,93	100,5	90,01
SV	ex pretermine	(N=73)	media	47,52	51,02	40,77	49,97	48,20
	a termine	(N=46)	media	48,9	51,66	42,12	49,04	49,86
CI	ex pretermine	(N=73)	media	3,56	4,34	3,46	4,45	3,49
	a termine	(N=46)	media	3,59	4,35	3,49	4,83	3,69

Anche gli indici pressori MAP, SAP e DAP non presentano differenze significative tra i due gruppi all'ANOVA. Risulta anche in questo caso significativa la variazione delle singole variabili tra fasi (MAP $F_{1,588}=22,80$ $p=0,000$; SAP $F_{1,588}=21,67$ $p=0,0000$; DAP $F_{1,588}=21,67$ $p=0,0000$).

⁴ per motivi di chiarezza espositiva vengono omessi tabelle i valori di deviazione standard

Per ciascuna di queste tre variabili si osserva un andamento decrescente nel corso della somministrazione dello stimolo doloroso (t1 – t3), ovvero dalla fase di start fino al raggiungimento della tolleranza (Tabella 24). Con il passaggio alla fase di recupero t 4 i valori medi MAP, SAP e DAP tornano ad allinearsi a quelli espressi in fase di abitudine t1.

Tabella 24: confronto tra valori medi delle misure pressorie registrate nei due gruppi prima durante e dopo la somministrazione dello stimolo doloroso

				t0	t1 – t3	t4
MAP	ex pretermine	(N=73)	media	84,48	80,5	84,89
	a termine	(N=46)	media	87,17	82,99	83,97
SAP	ex pretermine	(N=73)	media	114,67	107,58	115,48
	a termine	(N=46)	media	116,18	109,74	115,56
DAP	ex pretermine	(N=73)	media	69,38	66,95	69,6
	a termine	(N=46)	media	72,66	66,94	69,06

7.6.3 Gruppo ex pretermine: variabili emodinamiche ed età gestazionale

L'analisi statistica finalizzata a verificare se l'età gestazionale dei bambini ex pretermine avesse un'influenza sulle variabili emodinamiche e gli indici pressori rilevati nelle diverse fasi sperimentali ha portato a risultati non omogenei e difficilmente interpretabili. Recuperando la suddivisione dei bambini ex pretermine in tre classi di età gestazionale (I° e.g. < 29; II° e.g. = 29 – 31 ; III° 37° < e.g. ≥ 32°) è stata condotta una regressione lineare che mostra come sia solo il II° gruppo a differenziarsi significativamente dagli altri e sempre per valori medi più alti (Tabelle 25 e 26: i valori significativamente differenti sono in grassetto):

- per HR ($t=2,52$ $p=0,014$) in fase di start [t 1];
- per MAP ($t=3,76$ $p=0,000$) e DAP ($t=3,76$ $p=0,000$) in fase di baseline [t 0];
- per SAP ($t=2,43$ $p=0,018$) in fase di recupero [t 4];

Tabella 25: confronto tra valori medi degli valori emodinamici, registrati nelle tre classi di età gestazionale, fase per fase

	I° e.g. < 29°		II° 29°- e.g. - 31°	III° 37° < e.g. ≥ 32°	
HR	t0	media	83,25	93,79	90,03
	t1	media	97,33	112,82	100,16
	t2	media	80,95	73,19	85,97
	t3	media	89,63	104,47	97,37
	t4	media	83,44	91,34	89,12
SV	t0	media	44,39	45,75	48,65
	t1	media	44,13	50,44	52,25
	t2	media	33,07	39,09	42,53
	t3	media	39,83	56,68	49,08
	t4	media	46,52	46,22	49,19
CI	t0	media	3,26	3,60	3,59
	t1	media	3,81	4,72	4,28
	t2	media	2,95	3,41	3,56
	t3	media	3,17	4,87	4,48
	t4	media	3,24	3,38	3,56

Tabella 26: confronto tra valori medi degli indici pressorie registrati nelle tre classi di età gestazionale, prima, durante e dopo la somministrazione dello stimolo doloroso

	I° e.g. < 29°		II° 29°- e.g. - 31°	III° 37° < e.g. ≥ 32°	
MAP	t0	media	84,76	89,83	82,43
	t1-t3	media	81,62	82,72	79,48
	t4	media	86,67	87,37	83,71
SAP	t0	media	116,29	118,94	112,83
	t1-t3	media	111,74	108,08	106,77
	t4	media	117,43	120,61	112,69
DAP	t0	media	69	75,27	67,23
	t1- t3	media	66,56	70,04	65,85
	t4	media	69,28	70,75	69,22

7.6.4 Gruppo ex pretermine: variabili emodinamiche e variabili neonatali

Anche lo studio delle correlazioni tra le variabili emodinamiche (HR, SV, CI) e indici pressori (MAP, SAP, DAP) con le variabili neonatali (Tabella 27: in grassetto sono evidenziati le correlazioni significative), così come descritte nei paragrafi dedicati alla percezione del dolore, ha dato risultati non omogenei e difficilmente interpretabili.

Tabella 27: correlazioni tra variabili emodinamiche e indici pressori con le variabili neonatali descritte nel gruppo ex pretermine

var. neonatali	HR		SV		CI		MAP		SAP		DAP	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Apgar 1'	-0,0833	0,12	0,1171	0,03	-0,0133	0,81	-0,0141	0,79	0,0206	0,71	-0,0401	0,46
Apgar 5'	-0,0962	0,08	0,1602	0,003	0,0137	0,81	0,0178	0,74	0,0182	0,74	0,0167	0,76
Apgar 10'	-0,1934	0,09	-0,1186	0,03	-0,1186	0,29	0,1624	0,15	0,1695	0,13	0,1345	0,23
Durata primo	0,0466	0,39	-0,0497	0,36	0,0116	0,83	0,0397	0,46	0,0189	0,73	0,0531	0,32
Peso Neonat.	-0,0397	0,46	0,0731	0,17	-0,0149	0,78	-0,1270	0,02	-0,0861	0,11	-0,1462	0,01
N ricoveri	-0,0173	0,73	-0,0497	0,36	-0,0948	0,08	0,0389	0,47	0,0169	0,75	0,0533	0,32
Snap II	0,0000	0,99	-0,1337	0,02	-0,0492	0,41	0,0053	0,93	0,0065	0,01	0,0031	0,96
Snappe II	0,0198	0,74	-0,1963	0,001	-0,0925	0,12	-0,0052	0,93	0,0006	0,99	-0,0106	0,86
N Procedure	0,0014	0,98	-0,0985	0,07	-0,0146	0,79	0,0060	0,91	0,0018	0,97	0,0096	0,86

Il confronto tra il gruppo ex pretermine (N=73) e quello nati a termine (N=46), suddivisi entrambi in tre classi di percentile – A $\leq 10^\circ$ %ile; B compresi tra l'11° e il 25° %ile; C $> 25^\circ$ %ile – (Tabelle 28, 29, 30, 31), effettuato attraverso l'analisi della regressione lineare, non mostra differenze statisticamente significative in nessuno dei valori emodinamici e degli indici pressori studiati fase per fase nelle tre classi.

Tabella 28: valori emodinamici medi negli ex pretermine per tre classi di percentile di peso alla nascita

ex pretermine			A $\leq 10^\circ$ %ile	B=11°-25°%ile	C>25°%ile
			N=40	N=14	N=17
HR	t0	media	88,41	94,82	89,9
	t1	media	102,01	104,99	105,17
	t2	media	81,16	73,6	84,65
	t3	media	98,26	105,73	97,1
	t4	media	89,16	86	92,84
SV	t0	media	46,81	46,41	49,68
	t1	media	51,5	49,7	51,96
	t2	media	40,97	32,63	45,02
	t3	media	51,55	45,31	53,75
	t4	media	46,87	47,14	50,7
CI	t0	media	3,41	3,69	3,79
	t1	media	4,3	4,23	4,66
	t2	media	3,45	2,66	3,91
	t3	media	4,18	4,14	4,35
	t4	media	3,36	3,41	3,81

Tabella 29: valori emodinamici medi nei nati a termine per tre classi di percentile di peso alla nascita

nati pretermine			A ≤ 10° %ile	B=11°-25°%ile	C>25°%ile
			N=3	N=3	N=32
HR	t0	media	93,32	88,25	90,26
	t1	media	102,2	107,45	101,58
	t2	media	62,21	69,02	87,96
	t3	media	95,08	99,36	100,85
	t4	media	91,23	90,11	91,13
SV	t0	media	51,72	42,63	47,41
	t1	media	42,95	45,97	51,8
	t2	media	34,12	35,42	44,12
	t3	media	50,19	46,24	47,84
	t4	media	60,7	42,65	48,37
CI	t0	media	3,85	3,32	3,49
	t1	media	3,56	4,4	4,29
	t2	media	2,84	3,07	3,68
	t3	media	3,85	4,04	5,05
	t4	media	4,37	3,33	3,6

Tabella 30: indici pressori medi negli ex pretermine per tre classi di percentile di peso alla nascita

ex pretermine			A ≤ 10° %ile	B=11°-25°%ile	C>25°%ile
			N=40	N=14	N=17
MAP	t0	media	85,16	85,06	83,33
	t1-t3	media	80,11	78,54	82,36
	t4	media	85,31	86,21	83,33
SAP	t0	media	114,125	116,45	116,59
	t1-t3	media	106,69	105,62	111,48
	t4	media	115,27	115,91	116,76
DAP	t0	media	70,675	69,36	66,1
	t1-t3	media	66,82	65,31	67,8
	t4	media	70,32	71,36	66,76

Tabella 31: indici pressori medi nei nati a termine per tre classi di percentile di peso alla nascita

nati a termine			A ≤ 10° %ile	B=11°-25°%ile	C>25°%ile
			N=3	N=3	N=32
MAP	t0	media	95	89,55	86,79
	t1 - t3	media	85,19	79,59	83,56
	t4	media	87,54	81,63	84,42
SAP	t0	media	125,67	116	116,39
	t1 - t3	media	113,33	103,63	111,18
	t4	media	126,2	116,19	115,03
DAP	t0	media	79,67	76,33	71,99
	t1 - t3	media	71,11	67,57	69,62
	t4	media	68,21	64,35	69,11

7.6.5 Confronto intragruppi per sesso

L'analisi della varianza (ANOVA) evidenzia una variazione significativa, nel corso delle fasi dell'esperimento, delle variabili emodinamiche HR, e CI e degli pressori MAP, SAP e DAP registrate per i maschi (43,84%, n=32) e le femmine (56,16%, n=41) ex pretermine (Tabella 32: in grassetto i valori statisticamente significativi).

Per i maschi e le femmine nati a termine, l'ANOVA evidenzia variazioni statisticamente significative solo valori emodinamici (HR, SV, CI) delle bambine nel corso delle fasi dell'esperimento; gli indici pressori presentano tutti, ad eccezione di SAP nei maschi, variazioni significative nel corso della prova (Tabella 32).

Tabella 32: esiti dell'ANOVA applicata ai valori emodinamici e agli indici pressori rilevati nei due gruppi, suddivisi entrambi per sesso

HR	ex pretermine	maschi	F=4,48	p=0,0019
		femmine	F=3,34	p=0,0113
	nati a termine	maschi	F=2,01	p=0,1006
		femmine	F=5,35	p=0,005
SV	ex pretermine	maschi	F=1,91	p=0,1112
		femmine	F=1,44	p=0,2215
	nati a termine	maschi	F=0,72	p=0,5818
		femmine	F=3,33	p=0,0123
CI	ex pretermine	maschi	F=3,33	p=0,0119
		femmine	F=2,81	p=0,0269
	nati a termine	maschi	F=1,64	p=0,1720
		femmine	F=3,23	p=0,0146
MAP	ex pretermine	maschi	F=7,26	p=0,0000
		femmine	F=7,17	p=0,0000
	nati a termine	maschi	F=7,26	p=0,0000
		femmine	F=7,17	p=0,0000
SAP	ex pretermine	maschi	F=7,89	p=0,0000
		femmine	F=5,89	p=0,0002
	nati a termine	maschi	F=1,28	p=0,2835
		femmine	F=7,58	p=0,0000
DAP	ex pretermine	maschi	F=6,11	p=0,0001
		femmine	F=7,08	p=0,0000
	nati a termine	maschi	F=6,11	p=0,0001
		femmine	F=7,08	p=0,0000

Il confronto tra maschi e femmine ex pretermine, rispetto alle variabili emodinamiche e agli indici pressori, effettuato attraverso regressione lineare, riporta che: HR è

significativamente inferiore nei maschi ex pretermine rispetto alle femmine, con un coefficiente di -9,13 ($t=2,80$ $p=0,001$) (Tabella 33); i maschi presentano valori di MAP, con un coefficiente di -4,610761 ($t= -2,27$ $p=0,024$), e SAP, con un coefficiente di -2,78 ($t= -2,54$ $p=0,011$) significativamente inferiori alle femmine (Tabella 34).

La stessa analisi condotta sulle variabili emodinamiche e sugli indici pressori dei maschi e delle femmine nati a termine non ha dato risultati significativi.

Tabella 33: confronto tra valori medi degli valori emodinamici registrati nei maschi e nelle femmine ex pretermine fase per fase

			t0	t1	t2	t3	t4
HR	32 maschi ex pretermine	media	85,28	96,64	76,57	95,3	83,74
	41 femmine ex pretermine	media	94,23	107,98	86,84	100,79	93,32
SV	32 maschi ex pretermine	media	47,75	51,79	41,33	52,34	49,81
	41 femmine ex pretermine	media	47,39	50,42	40,34	48,09	46,94
CI	32 maschi ex pretermine	media	3,44	4,2	3,31	4,2	3,47
	41 femmine ex pretermine	media	3,66	4,45	3,59	2,64	3,5

Tabella 34: confronto tra valori medi degli indici pressorie registrati nei maschi e nelle femmine ex pretermine, prima, durante e dopo la somministrazione dello stimolo doloroso

			t0	t1 – t3	t4
MAP	32 maschi ex pretermine	media	82,24	77,73	82,55
	41 femmine ex pretermine	media	86,23	82,65	86,72
SAP	32 maschi ex pretermine	media	112,78	104,49	113,56
	41 femmine ex pretermine	media	116,16	109,95	116,98
DAP	32 maschi ex pretermine	media	66,97	64,46	67,05
	41 femmine ex pretermine	media	71,26	68,89	71,6

7.7 Analisi delle variabili psicologiche: confronto inter e intra gruppi

I risultati ottenuti dalla somministrazione dei test TAD e CBCL sono stati analizzati attraverso t test per rilevare eventuali differenze tra i due gruppi. Dopo aver proceduto alla loro siglatura è stato assegnato ai punteggi di entrambi i test un valore da 0 a 2, corrispondente all'assenza (0), alla condizione limite (1), alla franca presenza di disturbo (2). Nessun bambino dei 145 incontrati è rientrato nella fascia due. Al contrario tra i genitori dei bambini ex pretermine, che come gli altri hanno compilato il TAD e il CBCL in forma autosomministrata: tre (3,4%) attribuiscono al proprio figlio/a marcati tratti d'ansia; uno (1,1%) gli/le attribuisce marcati tratti depressivi e, infine, otto genitori descrivono attraverso il CBCL il proprio figlio/a (9,2%) come oltre il limite di norma nella scala totale del test.

Dall'analisi dei dati sopra anticipata risulta che i bambini ex pretermine differivano significativamente da quelli a termine nella scala della depressione compilata dai genitori ($t = 2,52$; $p = 0,012$) (Tabella 35). Infine dall'analisi dei CBCL relativi ai soli bambini pretermine (Tabella 36) risulta che i maschi differiscono significativamente dalle femmine per più alti punteggi nelle scala di internalizzazione ($t = 2,62$; $p = 0,01$) e in quella totale ($t = 2,29$; $p = 0,02$).

Non è emersa alcuna correlazione tra i test psicologici somministrati e le misure di reattività al dolore indagate.

Tabella 35: confronto tra le risposte date al TAD date dai genitori dei due gruppi

compila il genitore	TAD Depressione		TAD Ansia		TAD Disad, Soc,	
Prematuri	media	0,24	media	0,22	media	0,08
	dev,st	0,43	dev,st	0,5	dev,st	0,31
A termine	media	0,07	media	0,11	media	0,05
	dev,st	0,27	dev,st	0,32	dev,st	0,23
	t test 2,52		t test 1,53		t test 0,50	
	p 0,012		p 0,13		p 0,61	

Tabella 36: confronto tra le risposte date al TAD date dai genitori dei due gruppi

compila il genitore	CBCL INT		CBCL EST		CBCL TOT	
maschi prematuri	media	0,4	media	0,03	media	0,35
	<i>dev,st</i>	0,72	<i>dev,st</i>	0,16	<i>dev,st</i>	0,68
femmine premature	media	0,09	media	0	media	0,087
	<i>dev,st</i>	0,35	<i>dev,st</i>	0	<i>dev,st</i>	0,35
	t test 2,62		t test 1,10		t test 2,29	
	p 0,01		p 0,27		p 0,02	

8. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

8.1 Popolazione

Dall'elaborazione dei dati in nostro possesso emerge come a il gruppo dei bambini ex prematuri sia sovrapponibile, per quanto riguarda età, sesso e plica cutanea, alla popolazione di controllo, mentre i due gruppi differiscono per e.g. (come da premessa dello studio), per peso alla nascita e per gli indici di Apgar al 1', al 5' e 10' minuto, che risultano significativamente inferiori negli ex pretermine. In questo gruppo si osserva anche una prevedibile prevalenza di nascite a seguito di taglio cesareo.

8.2 Setting

La temperatura della stanza in cui si è stato condotto l'esperimento è risultata in media superiore di 2° C durante le prove sui prematuri rispetto a quelle sui controlli, tuttavia questa variabile si è dimostrata ininfluenza sulla variazione dei tempi di soglia e tolleranza, confermando i dati ottenuti da una precedente ricerca condotta su soggetti cefalalgici (Trapanotto M. et al, 2008). La temperatura delle due vasche, quella utilizzata in fase di baseline e quella per la somministrazione dello stimolo doloroso, sono rimaste in tutti gli esperimenti entro i limiti di range prestabiliti.

8.3 Percezione del dolore

Si osserva come i bambini ex prematuri si differenzino, rispetto ai nati a termine, per una latenza di soglia allo stimolo doloroso che sembra essere mediamente più lunga, mentre i tempi di tolleranza sono sovrapponibili. La valutazione della componente sensoriale con la Scala Analogico Visivo Colorata (CAS) e di quella affettiva con la Scala a Faccette

(FAS) misurate all'inizio della prova non fanno emergere differenze tra i due gruppi, mentre nella misura finale i valori relativi all'intensità di dolore percepito su CAS, riferiti dal gruppo dei prematuri, sono inferiori rispetto a quelli del gruppo dei controlli, vale a dire che i primi hanno una percezione sensoriale più bassa dei secondi.

8.4 Variabili neonatali

Come atteso, gli indici di rischio valutati nel gruppo dei bambini ex prematuri (Apgar, durata del primo ricovero, punteggi Snap II e Snappe II, numero di procedure, numero di ricoveri successivi) peggiorano quanto più bassa è l'età gestazionale considerata. Non risultano invece avere latenze di soglia e tolleranza significativamente più lunghe i bambini soggetti a interventi chirurgici in epoca neonatale, a tempi di ricovero post-partum più lunghi e a maggior numero più procedure: quest'ultimo risultato in particolare è in contraddizione con i recenti dati ottenuti da Hermann e colleghi (2006), in uno studio che descrive la soglia del dolore come significativamente più lunga sia in soggetti ex prematuri che in bambini nati a termine, rispetto a bambini non sottoposti a procedure invasive alla nascita. Riteniamo che la disparità tra i nostri dati e quelli ottenuti da Hermann e il suo gruppo sia da attribuirsi alla frammentarietà di alcune delle informazioni in nostro possesso informazioni (entità delle manovre terapeutiche invasive; esatta tipologia dei trattamenti subiti; quantità e qualità delle terapie antalgiche ricevute) attribuibile alla non sempre puntuale compilazione e archiviazione delle cartelle cliniche in cartaceo, risalenti ormai a quasi quindici anni fa.

Estendendo l'osservazione a tutti i bambini da noi testati, si ripropone nuovamente la condizione di più lunghi tempi di associati al decrescere dell'età gestazionale, in particolar modo per i bambini con e.g. inferiore alle 32 settimane. Per quanto riguarda

invece la tolleranza allo stimolo dolorifico emerge un andamento ad 'U' dei valori, con tempi di latenza ridotti associati ad un'e.g. compresa tra le 32 e le 39 settimane.

Emerge, inoltre, una correlazione di segno negativo tra peso alla nascita e tempi di soglia e tolleranza, riscontrata solo nel gruppo dei bambini ex prematuri. Per esplorare l'effetto della variabile peso neonatale, è stata comunque applicata a tutti e 145 i bambini la suddivisione in classi di peso alla nascita tracciata dall'O.M.S. per definire i limiti e la gravità di basso peso alla nascita. Si è così osservato che il trend decrescente delle latenze in funzione del crescere del peso neonatale risulta: significativo nel distinguere tempi di soglia nettamente più lunghi nei bambini con condizione di basso peso neonatale o condizione più grave; tendente alla significatività per i tempi di tolleranza.

Valutando i percentili di peso alla nascita, nonostante i valori di soglia e tolleranza descritti negli ex pretermine siano superiori rispetto ai nati a termine, non trova conferma statistica l'effetto del gruppo di appartenenza. Nel caso della tolleranza invece risultano caratterizzanti l'appartenenza al gruppo e, internamente al gruppo degli ex pretermine, la variabile sesso. In questa classificazione, come già in quella per età gestazionale, si osserva ancora una volta un andamento ad 'U', sia della latenza di soglia che di quella di tolleranza. Descrittivamente: i tempi di soglia e tolleranza più brevi sono quelli dei bambini con percentile di peso alla nascita incluso tra il 10° e il 25°; il trend dei dati nei due gruppi appare sovrapponibile.

Al fine di verificare se le latenze più lunghe espresse da bambini in condizioni prematurità estrema (<10% di peso) possano essere associate in qualche modo a un particolare effetto di trattamenti analgesici alla nascita, abbiamo controllato l'influenza di tale variabile nel gruppo dei bambini nati prematuri, riscontrando peraltro una tendenza ad ipo-trattare i bambini gravemente prematuri rispetto agli altri due gruppi considerati.

Quanto emerso nei dati relativi sui percentili di peso in relazione alla variabile sesso nel gruppo ex pretermine, ha mosso la curiosità di chiarire le cause di possibili differenze di percezione dello stimolo doloroso tra maschi e femmine, non trovando riscontro nella letteratura (Hermann et al., 2006; Walker et al., 2009). Da confronti intragruppo si osserva come maschi e femmine ex pretermine differiscano esclusivamente per il peso alla nascita, significativamente maggiore nei maschi. Tutte le altre variabili considerate appaiono sovrapponibili tra bambini e bambine ex pretermine. Nel caso dei maschi e delle femmine nati a termine non si osservano differenze statisticamente rilevanti in nessuna delle variabili anagrafiche e neonatali considerate. Alla luce di questi dati sono state fatte ulteriori sulle le latenze di soglia e di tolleranza nei due gruppi, e in entrambi si osservano, tempi di tolleranza significativamente più lunghi nelle femmine, dato questo che non trova conferme nella letteratura indagata e che, se negli ex pretermine può essere letto in associazione alla differenza di peso alla nascita tra maschi e femmine, nel caso dei nati a termine sembrerebbe un dato isolato da altre variabili.

8.5 Variabili emodinamiche e indici pressori

Lo studio delle variabili emodinamiche considerate ha portato a dati in qualche misura prevedibili, vista la selezione vincolata a condizioni di buona salute generale in entrambi i gruppi: il fattore gruppo non è risultato incidere su nessuna delle variabili emodinamiche e degli indici pressori.

L'analisi ha mostrato variazioni significative nell'arco delle quattro fasi dei valori di HR, SV, CI, MAP, SAP e DAP registrati in entrambi in i gruppi. Descrittivamente: si osserva, con l'inizio della stimolazione dolorosa, un incremento delle misure medie di HR, SV e CI che tende a sfumare e esaurirsi al termine dell'esperimento in entrambi i gruppi. Gli indici pressori MAP, SAP e DAP mostrano invece, in entrambi i gruppi un andamento

opposto, diminuendo durante la sperimentazione per tornare ai valori iniziali ad esperimento concluso. Non si rileva invece alcuna differenza significativa nella frequenza cardiaca associata specificamente al momento di raggiungimento della soglia e quello della tolleranza, a differenza di quanto riportato in altri studi che descrivono una possibile associazione tra incremento della frequenza cardiaca e dolore percepito (Victor et al., 1987; Yamamoto et al., 1992).

Non sembra possibile commentare in maniera univoca i dati emodinamici e pressori riscontrati nelle sottoclassificazioni per età gestazionale, peso alla nascita e percentili di peso. In questo senso si rileva come in letteratura l'alta discrepanza dei risultati ottenuti tra e negli studi che analizzano la reattività cardiovascolare al Cold Pressor Test, possa essere in parte attribuibile, in generale alla varietà delle procedure di induzione dello stimolo doloroso (Peckerman et al., 1991) e, più in dettaglio, alla sede e grandezza della superficie esposta (Kelsey et al., 2000a; 2000b), alla postura dei partecipanti (Saab et al., 1993), alla presenza/assenza del dolore (Peckerman et al., 1994), alla presenza/assenza dello sperimentatore nella stanza (Kamarck et al., 1990).

Variabili psicologiche

Non è emersa alcuna relazione tra i risultati dei test psicologici e i dati della reattività al dolore. Tale risultato non concorda con gli studi ormai consolidati che confermano la relazione tra variabili di tipo psico-emozionale (ad es. ansia e depressione) e dolore (McGrath, 1990). Questa divergenza è probabilmente attribuibile al fatto che l'esperimento prevede la somministrazione di uno stimolo doloroso d'intensità moderata e reversibile, non assimilabile in alcun modo a situazioni reali di danno fisico inatteso.

8.6 Variabili psicologiche

Nessuno dei test ha avuto esito oltre i limiti di norma. Si sono invece riscontrati, nel confronto tra gruppi, punteggi significativamente maggiori sulla scala della depressione nelle descrizioni dei bambini ex pretermine date dai genitori. Emerge inoltre, nel confronto tra bambine e bambini ex pretermine, una predominanza in questi ultimi di comportamenti di tipo internalizzante. Si riporta questo dato a solo fine descrittivo, non avendo utilizzato questi test a fini diagnostici e risultando il campione complessivo dei bambini nella norma.

8.7 Conclusioni

Lo studio della percezione del dolore in ambito sperimentale pediatrico, tenuto conto degli importanti risvolti etici coinvolti, è importante per potere isolare alcuni fattori confondenti, inevitabilmente presenti in ogni situazione clinica. In particolare, il Cold Pressor Test risulta un metodo valido e non particolarmente ansiogeno per il bambino. Si sottolinea comunque come l'estensione dei risultati anche in ambito clinico deve essere effettuata con cautela, per le suddette ragioni (Fitzgerald M, Walker S, 2003).

Il presente studio ha, prima di tutto, confermato la validità del metodo e delle procedure usate per l'induzione dello stimolo doloroso anche in età pediatrica, in linea con quanto già esplicitato in una recente ricerca condotta da Trapanotto (2008). La temperatura dell'acqua nella vasca fredda si è mantenuta, come previsto, entro un range di variabilità di $10^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$; tutti i bambini hanno portato volentieri a termine l'esperimento e nessuno ha riportato effetti collaterali dopo la somministrazione. Come rilevato anche in altri studi è stata riscontrata una grande variabilità interpersonale di valori di soglia e tolleranza al dolore (Franck et al. 2000; Morison et al. 2001).

Dai risultati è emerso un dato inatteso, contro intuitivo e molto coerente nella sua ripetitività, per altro in linea con i due soli studi di recente pubblicazione, che si sono occupati di alterazione a lungo termine della percezione del dolore (Herman et al, 2006; Walker S. et al., 2009): la percezione del dolore (soglia e tolleranza) è risultata alterata nei bambini ex prematuri di 10 anni, in termini di aumentate o ridotte soglia e tolleranza allo stimolo doloroso, come già adombrato da Fitzgerald (2006). Il fattore discriminante in tal senso sembra essere in particolare associato al percentile di peso di nascita. La classe più sensibile sembrerebbe quella dei bambini il cui peso alla nascita cade tra il 10° e il 25° percentile. I bambini ex prematuri e nati a termine con peso alla nascita superiore al 25° percentile presentano invece elevati tempi di soglia e tolleranza in risposta al dolore.

Nello studio di Hermann (2006) in particolare era stato selezionato un campione limitato di prematuri nati entro le 31 settimane, riscontrando lo stesso dato di aumentata soglia del dolore in questa popolazione. Tale effetto, secondo gli autori, poteva essere legato al numero di procedure effettuate, che era direttamente proporzionale alla latenza di percezione del dolore. Gli autori non hanno saputo giustificare questo dato.

Nel presente studio si è voluto indagare non solo l'effetto della variabile numero di procedure (risultato peraltro non significativo per i limiti di studio esposti al paragrafo 9.4 Variabili neonatali), ma anche quello di altre variabili associate, alla prematurità (età gestazionale, tipo di parto, gemellarità, peso di nascita e relativo percentile, Indice di Apgar al 1°, al 5° e al 10° minuto).

L'andamento ad 'U' della curva di latenza della tolleranza legata all'e.g., sovrapponibile a quelli evidenziati per le latenze di soglia e tolleranza nelle analisi con i percentili di peso neonatale, potrebbe essere spiegato dal fatto che i neonati meno maturi subiscono

procedure invasive e dolorose in un periodo che precede quello “critico” dello sviluppo del Sistema Nervoso e quindi in un qualche modo sono protetti dall’insulto, come anche accade per i neonati di maggiore età gestazionale e quindi con vie già mature.

I neonati inclusi tra l’11° e il 25° percentile, che risultano in maggioranza appartenere al gruppo dei nati pretermine, rappresenterebbero la classe più sensibile, forse minata dall’insulto proprio nell’epoca “critica” di maturazione. Si è, inoltre, messo in evidenza come i risultati non siano in alcun modo attribuibili ad una differente copertura analgesica in epoca neonatale: i bambini con peso inferiore al 10° percentile non hanno ricevuto analgesici che potessero essere considerati protettivi da eventuali insulti dolorosi. Data la mancanza di altri riscontri in letteratura, non possiamo spingere oltre le nostre interpretazioni.

In sintesi, la percezione del dolore (soglia e tolleranza), indotto da uno stimolo sperimentalmente controllato, è alterata nei bambini di 10 anni in relazione all’e.g. di nascita. Tale alterazione può essere rappresentata da una minore ma anche maggiore tolleranza allo stimolo come intuito da Fitzgerald (2006), ma poiché manca un’evidenza conclusiva, soprattutto per quanto concerne i prematuri al di sotto del 10° percentile, sono necessarie ulteriori conferme per avallare l’ipotesi di modulazione in termini di ipo o ipersensibilità associata al periodo di maturazione in cui avviene l’insulto ed alla ricaduta a lungo termine sulla percezione del dolore.

APPENDICI

1. Tabelle di calibrazione dei punteggi Snappe II Calibration of mortality risk model, by birth weight category

		Observed deaths		Expected deaths	
SNAPPE-II	Total	No.	%	No.	%
For all birth weights					
0-9	16,274	48	0.3%	51	0.3%
10-19	3,923	61	1.6%	61	1.6%
20-29	1,952	74	3.8%	71	3.6%
30-39	1,262	93	7.4%	101	8.0%
40-49	790	124	15.7%	116	14.7%
50-59	476	105	22.1%	102	21.4%
60-69	310	101	32.6%	100	32.3%
70-79	142	55	38.7%	63	44.4%
> = 80	141	94	66.7%	90	63.8%

		Observed deaths		Expected deaths	
SNAPPE-II	Total	No.	%	No.	%
For <1500 g					
0-9	1,526	9	0.6%	7	0.5%
10-19	1,092	30	2.7%	24	2.2%
20-29	772	40	5.2%	38	4.9%
30-39	645	61	9.5%	60	9.3%
40-49	497	79	15.9%	78	15.7%
50-59	318	72	22.6%	72	22.6%
60-69	260	85	32.7%	84	32.3%
70-79	121	46	38.0%	53	43.8%
> = 80	132	88	66.7%	85	64.4%

		Observed deaths		Expected deaths	
SNAPPE-II	Total	No.	%	No.	%
For >=1500 g					
0-9	14,748	39	0.3%	45	0.3%
10-19	2,831	31	1.1%	37	1.3%
20-29	1,180	34	2.9%	33	2.8%
30-39	617	32	5.2%	40	6.5%
40-49	293	45	15.4%	38	13.0%
50-59	158	33	20.9%	30	19.0%
60-69	50	16	32.0%	16	32.0%
70-79	21	9	42.9%	10	47.6%
> = 80	9	6	66.7%	5	55.6%

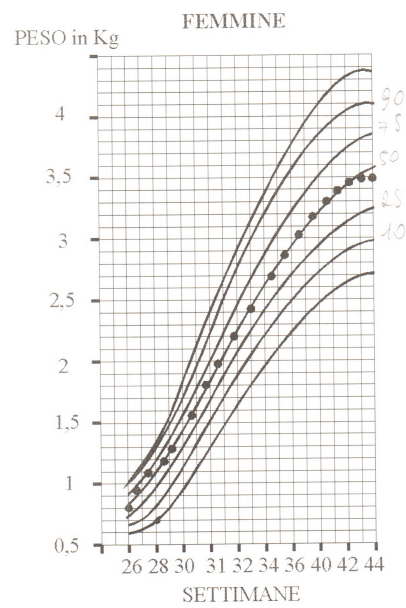
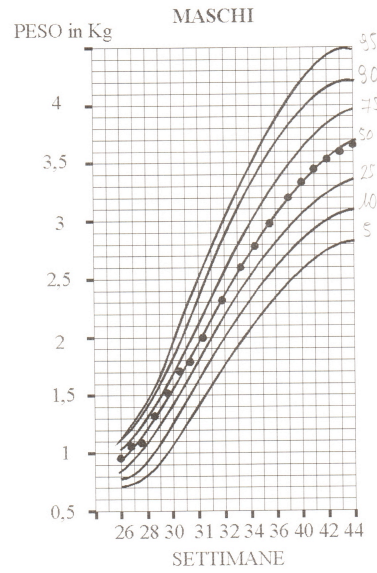
Patients excluded :

1. Babies released to the regular nursery in <24 hours;
2. Babies admitted to the neonatal intensive care unit at >48 hours of age or after having been discharged home;
3. Moribund infants when an explicit physician decision not to provide life support was made at the time of NICU admission;
4. Babies who died in the delivery room.

2. TAVOLE DEI PERCENTILI DEL PESO ALLA NASCITA DI NEONATI ITALIANI

(da Rubaltelli, 1999)

Percentili approvati dalla Società Italiana di Neonatologia



Bibliografia

Achenbach T.M. Questionario sul Comportamento del Bambino [*Manual for Child Behavior Checklist/4-18 and 1991 Profile*], Burlington VT, University of Vermont, Department of Psychiatry 1991.

Alvarez D., Fitzgerald M. Building blocks of pain: the regulation of key molecules in spinal sensory neurons during development and following peripheral axotomy. *Pain*, 1999; 6 (suppl): S71-S85.

Anand KJS, Hickey PR. Pain and its effects in the human neonate and fetus. *New England Journal of Medicine* 1987; 21: 1321-1329.

Anand KJS, Phil D & Carr DB. The neuroanatomy, neurophysiology and neurochemistry of pain, stress, and analgesia in newborns and children. *Pediatric Clinics of North America*, 1989; 4: 795-822.

Anand KJS. The biology of pain perception in newborn infants in advances in pain research therapy. Raven Press: New York 1990; Vol 15: 113-122.

Anand KJS. Relationships between stress responses and clinical outcome in newborns, infant and children. *Critical Care Medicine* 1993; 21: 358-359.

Anand KJS, Grunau RVE & Oberlander TF. Developmental character and long-term consequences of pain in infants and children. In: *Pain Management in Children, Child and Adolescent Psychiatric clinics of North America*. SJ Weisman (eds), 1997; 6 (4): 703-724.

Anand KJS, Porter FL. Epidemiology of pain in neonates. *Res Clin Forums*, 1998; 20(4): 9-18.

Anand KJS, Coskun V, Thirivikraman KV, Nemeroff CB & Plotsky PM. Long-term behavioral effects of repetitive pain in neonatal rat pups. *Physiology and Behavior*, 1999; 66(4): 627-637.

Anand KJS. Effects of perinatal pain and stress. *Progress in Brain Research*, 2000; 122: 117-129.

Anand KJS, Scalzo FM. Can adverse neonatal experiences alter brain development and subsequent behavior? *Biology of the neonate*, 2000; 77: 69-82.

Andrews KA, Fitzgerald M. The cutaneous withdrawal reflects in human neonates: sensitization receptive fields and the effects of contralateral stimulation. *Pain*, 1994; 56:95-101.

Andrews KA, Fitzgerald M. Wound sensitivity as a measure of analgesic effects following surgery in human neonates and infants. *Pain*, 2002.

Apley J, Haslam DR, Tulloh CG. Pupillary reactivity in children with recurrent abdominal pain. *Arch Dis Child* 1971; 46: 337-40.

Arendt-Nielsen L, Bjerring P. Sensory and pain threshold characteristics to laser stimuli. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 51: 35-42.

Arendt-Nielsen L & Chen ACN. Lasers and other thermal stimulators for activation of skin nociceptors in humans. *Clin Neurophysiol* 2003; 33: 259-68.

Beggs S, Torsney C, Drew L, Fitzgerald M. The postnatal reorganization of primary afferent input and dorsal horn cell receptive fields in the rat spinal cord is an activity-dependent process. *Eur J Neurosci*, 2002; 16: 1249-1258.

Bush JP. Pain in children: A review of the literature from a developmental perspective. *Psychology and Health*, 1987; 1: 215-236.

Bhutta AT, Cleves MA, Casey PH, Craddock MM, Anand KJS. Cognitive and Behavioral Outcomes of School-Aged Children Who Were Born Preterm. *Jama*, 2002; 288 (6): 728-737.

Fanurik D, Zeltzer LK, Roberts MC, Blount RL. The relationship between children's coping styles and psychological interventions for cold pressor pain. *Pain* 1993; 53: 213-22.

Carr TD, Lemanek KL & Armstrong FD. Pain and fear ratings: Clinical implications of age and gender differences. *Journal of Pain and Symptom Management*, 1998; 15: 305-315.

Cacciari E., Cao A., Cavazzuti G.B., Cicognani A., Guaraldi G.P., Guglielmi M., Maggiore G., Mastroiacovo P., Notarangelo L.D., Panizon F., Ventura A. , Zanesco L.. PRINCIPI E PRATICA DI PEDIATRIA. III edizione, 1999, Monduzzi Editore, Bologna.

Chambers CT, Craig KD, Bennett SM. The impact of maternal behavior on children's pain experiences: An experimental analysis. *J Ped Psychol* 2002; 27: 293-301.

Coldwell SE, Kaakko T et al.. Temporal Information Reduces Children's Pain Reports During a Multiple-Trial Cold Pressor Procedure. *Behavior therapy*, 2002; 33: 45-63.

Croft RJ, Williams JD, Haenschel C, Gruzelier JH. Pain perception, hypnosis and 40 Hz oscillations. *Int J Psychophysiol* 2002; 46: 101-8.

Crombez G, Beayens F, Eelen P. Sensory and temporal information about impending pain: The influence of predictability on pain. *Behaviour Research and Therapy*, 1994; 32: 611-622.

Doyle L.W. Outcome at 5 Years of Age of Children 23 to 27 Weeks' Gestation: Refining the Prognosis. *Pediatrics*, 2001; 108 (1): 134-141.

Eland J.M. & Anderson J.E.. The experience of pain in children. In: *Pain: A Source Book for Nurses and other Health Professionals*, Jacox AK (ed) pp 453-73, 1977, LittleBrown, Boston.

Evans JC, Vogelpohl DG, Bourguignon CM & Morcott CS. Pain behaviors in LPW infants accompany some nonpainful caregiving procedures. *Neonatal Network*, 1997; 16 (3): 33-40.

Fanurik D, Zeltzer LK, Roberts MC, Blount RL. The relationship between children's coping styles and psychological interventions for cold pressor pain. *Pain* 1993; 53: 213-22.

Franck et al., 2000 L.S. Franck, C.S. Greenberg and B. Stevens, Pain assessment in infants and children, *Pediatric Clinics of North America*, 2000; 47: 487-512.

Fitzgerald M. Development of pain pathways and mechanisms. In KJS Anand and PJ McGrath. (Eds.) *Pain in neonates*. Amsterdam: Elsevier, 1993: 19-37.

Fitzgerald M, Butcher T, Shortland P. Developmental changes in the laminar termination of A-fibre cutaneous sensory afferents in the rat spinal cord dorsal horn. *J Comp Neurol*, 1994; 348: 225-233.

Fitzgerald M. Developmental biology of inflammatory pain. *British journal of Anaesthesia*, 1995; 75: 177-185.

Fitzgerald M, Jennings E. The postnatal development of spinal sensory processing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96:7719-7722.

Fitzgerald M. Painful Beginnings. *Pain* 2004; 110: 508-9.

Fitzgerald M, Walker S. The role of activity in developing pain pathways. In: Dostovsky JO, Carr DB, Koltzenburg M (eds). *Proceedings of the 10th World Congress on Pain*. Progress in Pain Research and Management, Vol. 24: 85-96; 2003; Seattle: IASP Press

Fitzgerald M. Painful Beginnings. *Pain* 2004; 110: 508-9.

Gaffney A, Dunne E A. Developmental aspects of children's definitions of pain. *Pain* 1986; 26:105-117.

Gibbs CH, Karpinia K, Moorhead JE, Maruniak JW, Heins PJ. An algometer for intraoral pain tolerance measurements. *J Neurosci Methods* 1999; 88: 135-9.

Goodman JE, McGrath PJ. Mother's modeling influences children's pain during a cold pressor task. *Pain* 2003; 104: 559-65.

Grunau RE, Whitfield MF, Petrie J: Children's judgements about pain at age 8-10 years: do extremely low birthweight (≤ 1000 g) children differ from full birthweight peers? *J Child Psychol Psychiatry*, 1998; 39:587-594.

Grunau RE. Long-term consequences of pain in human neonates. In Anand KJS, Stevens BJ, McGrath PJ (Eds). Pain in neonates. 2nd ed. *Pain Research and Clinical Management*, Vol. 10. Amsterdam: Elsevier, 2000.

Hermann C., Hohmeister J., Demirakça S., Zohsel K. And Flor H. Long-term alteration of pain sensitivity in school-aged children with early pain experiences. *Pain*, 2006 ; 125; 278-285.

Hohmeister J., Demirakca S., Zohsel K., Flor H. and Hermann C.. Responses to pain in school-aged children with experience in a neonatal intensive care unit: Cognitive aspects and maternal influences. *European Journal of Pain* , 2009; 13: 94–101

Hilz MJ, Stemper B, Schweibold G, Neuner I, Grahmann F, Kolodny E. Quantitative thermal Perception Testing in 225 Children and Juveniles. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 1998; 15(6): 529-534.

Humphrey T. Some correlation between the appearance of human fetal reflexes and the development of the nervous system. *Progress in Brain Research* 1964; 4: 93-135.

Johnston CC, Stevens B. Experience in the NICU affects pain responses. *Pediatrics* 1996; 98: 925.

Kamarck TW, Manuck SB, Jennings JR. Social support reduces cardiovascular reactivity to psychological challenge: a laboratory model. *Psychosomatic Medicine*, 1990; 52: 42–58.

Kelsey RM, Alpert BS, Patterson SM, Barnard M. Racial Differences in hemodynamic responses to environmental thermal stress among adolescents. *Circulation*, 2000a; 101: 2284.

Kelsey RM, Patterson SM, Barnard M, Alpert BS. Consistency of hemodynamic responses to cold stress in adolescents. *Hypertension* 2000b; 36: 1013.

LeBaron S, Zeltzer L, Fanurik D. An investigation of cold pressor pain in children. *Pain* 1989; 37:161-171.

Lorenz J.M. Treatment decisions for the extremely premature infant. *The Journal of Pediatrics*, 2000; 137 (5): 593-595.

McGrath P.A.. An assessment of children's pain: a review of behavioral, physiological and direct scaling techniques. *Pain*; 1987; 31: 147–176.

McGrath P.A. Pain in children: Nature, assessment and treatment. *The guilford press*, 1990.

McGrath P.A, Seifert CE, Speechley KN, Booth JC, Stitt L, Gibson MC. A new analogue scale for assessing children's pain: An initial validation study. *Pain* 1996; 64: 435-43.

McGregor AJ, Griffiths GO, Baker J, Spector TD. Determinants of pressure pain threshold in adult twins: evidence that shared environmental influences predominate. *Pain*, 1997; 73: 253-257.

Melzack R. & Wall P. D. Pain Mechanism: A New Theory. *Science* 1965; 150: 971-979.

Melzack R. and Casey KL. Sensory, motivational and central control determinants of pain. *In* The Skin Senses, Kenshalo D.R., Jr. Springfield I.L., and Thomas C.C. (eds), 1968, pp. 423-43.

Mitchell A., Boss B.J. Adverse Effects of Pain on the Nervous System of Newborns and Young Children: A Review of the Literature. *Journal of Neuroscience Nursing* 2002; 5: 228-236.

Mickell JJ, Lucking SE, Chaten FC, Young ES. Trending of impedance-monitored cardiac variables: Method and statistical power analysis of 100 control studies in a pediatric intensive unit care. *Crit Care Med* 1990; 18: 645-650.

Mohammadian P, Schaefer D, Hummel T, Kobal G. Experimentally induced nasal irritation. *Rhinology* 1999; 37: 175-8.

Morison SJ, Grunau RE, Oberlander TF, Whitfield MF. Relations between behavioral and cardiac autonomic reactivity to acute pain in preterm neonates. *Clin J Pain*, 2001; 17:350-358.

Newcomer P., Barembaun E., Bryant B. Test dell'ansia e della depressione nell'infanzia e nell'adolescenza (TAD). Erickson, 1995, Trento.

Peckerman A, Saab PG, McCabe PM, Skyler JS, Winters RW, Llabre MM, Schneiderman N. Blood pressure reactivity and perception of pain during the forehead cold pressor test. *Psychophysiology*, 1991;28:485-495.

Peckerman A, Hurwitz BE, Saab PG, Llabre MM, McCabe PM, Schneiderman N. Stimulus dimensions of the cold pressor test and the associated patterns of cardiovascular response. *Psychophysiology*, 1994; 31:282-290.

Perreault T, Fraser-Askin D, Liston R, McCourt C, Oh W, Ohlsson A, et al. Pain in the neonate. *Paediatric Child Health*, 1997; 2(3): 201-209.

Piaget J, Inhelder B. The psychology of the child. New York: Basic Books, 1969.

Piira T, Taplin JE, Goodenough B, von Baeyer CL. Cognitive-behavioural predictors of children's tolerance of laboratory-induced pain: implications for clinical assessment and future directions. *Behav Res Ther* 2002; 40: 571-585.

Pokela M. Pain relief can reduce hypoxemia in distressed neonates during routine treatment procedures. *Pediatrics* 1994; 93: 379.

Porter FL, Grunau RE, Anand KJ. Long-term effects of pain in infants. *Journal of Developmental and Behavioural Pediatrics* 1999; 20; 253-262.

Myers C.D., Tsao J.C., Glover D., Kim S.C., Turk, N. Zeltzer L. K.. Sex, Gender, and Age: Contributions to Laboratory Pain Responding in Children and Adolescents *Journal of Pain*; 2006; 7(8): 556-64

Richardson D.K., Corcoran J.D., Escobar G.J., Lee S.K. SNAP-II and SNAPPE-II: Simplified newborn illness severity and mortality risk scores. *The Journal of Pediatrics* 2001; 1; Pages 92-100

Rubaltelli F.. *Vademecum Neonatologico*. II edizione, SEE-Firenze (ed),1999.

Saab PG, Llabre MM, Hurwitz BE, et al. The cold pressor test: vascular and myocardial response patterns and their stability. *Psychophysiology*, 1993; 30: 366-373.

Saverda M, Gibbons P, Tesler M, Ward J, Wegner C. How do children describe pain? A tentative assessment. *Pain* 1982; 14: 95-104.

Schechter NL, Berde CB, Yaster M (Eds). Pain in Infants, Children, and Adolescents 2nd ed. Hardcover: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2003.

Simons SHP and Tibboel Dick. Pain perception development and maturation. In: *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. Vol.11. Issue 4, 2006: 277-231.

Slater R., Cantarella A., Gallella S., Worley A., Boyd S., et al.. Cortical pain responses in human infants. *Journal of Neuroscience*, 2006; 26: 3662–3666

Smith MS, Martin-Herz SP, Womack WM, McMahon RJ. Recurrent headache in adolescents: Non-referred versus clinic population. *Headache* 1999; 39: 616-24.

Taddio A., Katz J., Ilersich A. et al., Effect of neonatal circumcision pain response during subsequent vaccination. *Lancet*, 1997, 349: 599-603.

Thastum M, Zachariae R, Scholer M, Bjerring P, Herlin T. Cold Pressor Pain: Comparison of responses of Juvenile patients and their parents. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 1997; 26: 272-79.

Thastum M, Zachariae R, Scholer M, Herlin T. A Danish adaption of the Pain Coping Questionnaire for children: Preliminary data concerning reliability and validity. *Acta Paediatr* 1998; 88: 132-38.

Trapanotto M., Pozziani G., Perissinotto E., Barbieri S., Zacchello F., Benini F.. “The Cold Pressor Test for the Pediatric Population: Refinement of Procedures, Development of Norms, and Study of Psychological Variables” *Journal of Pediatric Psychology*, Advance Access published Oct. 9, 2008.

Victor, RG, Wayne N, Leimbach J, Seals DR, Wallin BG, Mark AL. Effects of the cold pressor test on muscle sympathetic nerve activity in humans. *Hypertension* 1987; 9:429-436.

Walker S. M., Franck L. S., Fitzgerald M., Myles J., Stocks J., Marlow N.. Long-term impact of neonatal intensive care and surgery on somatosensory perception in children born extremely preterm

Pain, 2009; 141: 79-87

Williams D.A., Thorn B.E. Can research methodology affect treatment outcome? A comparison of two cold pressor test paradigms. *Cognitive Therapy and Research*, 1986; 10: 539-546.

Wood NS, et al. Neurologic and developmental disability after extremely preterm birth. *New England Journal of Medicine*, 2000; 343(6): 378-84

Yamamoto K, Iwase S, Mano T. Responses of muscle sympathetic nerve activity and cardiac output to the cold pressor test. *Japan Journal of Physiology*, 1992; 42: 239-252.

Varni JW, Thompson KL, Hanson V. The Varni Thompson Pediatric Pain Questionnaire. I. Chronic musculoskeletal pain in juvenile rheumatoid arthritis. *Pain* 1987; 28: 27-38.

Zeltzer LK and LeBaron S. Hypnosis and non hypnotic techniques for reduction of pain and anxiety during painful procedures in children and adolescents with cancer. *J Pediatr* 1982; 101: 1032-35.

Zeltzer LK, Fanurik D, LeBaron S. The cold pressor pain paradigm in children: Feasibility of an intervention model. *Pain* 1989; 37: 305-13.