

Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicíně

Fyziologie a patofyziologie člověka



Disertační práce

**Význam systémové zánětové odpovědi v predikci chronické plicní nemoci
novorozenců**

**The importance of the systemic inflammatory response in the prediction of
neonatal chronic lung disease**

MUDr. Ivan Berka

Praha 2021

Školitel: Prof. MUDr. Zbyněk Straňák, PhD, MBA

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 2021

.....

MUDr. Ivan Berka

Identifikační záznam

BERKA, Ivan. *Význam systémové zánětové odpovědi v predikci chronické plicní nemoci novorozenců [The importance of the systemic inflammatory response in the prediction of neonatal chronic lung disease]*. Praha, 2021. Počet stran: 76, počet příloh: 3.

Dizertační práce (PhD).

Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Ústav pro péči o matku a dítě.

Vedoucí závěrečné práce: prof. MUDr. Zbyněk Straňák, PhD, MBA

Poděkování

Děkuji Prof. MUDr. Zbyňku Straňákovi, PhD, MBA za důvěru a vedení.

Dále děkuji své rodině a kolegům z Ústavu pro péči o matku a dítě v Podolí za pomoc a podporu.

Obsah	1
Abstrakt	3
Abstract	4
1. Úvod a přehled problematiky	5
1.1 Bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců.....	5
1.1.1 Definice bronchopulmonální dysplázie/chronické plicní nemoci novorozenců.....	5
1.1.2 Patofyziologie alterace vývoje plic po předčasném porodu	7
1.1.3 Role zánětu v rozvoji chronické plicní nemoci novorozenců.....	9
1.1.4 Rizikové faktory rozvoje chronické plicní nemoci novorozenců.....	10
1.1.5 Prevence rozvoje chronické plicní nemoci novorozenců	16
1.1.6 Následky chronické plicní nemoci novorozenců.....	18
1.2. Diagnostika a predikce chronické plicní nemoci novorozenců.....	19
1.1.2 Biologické markery v séru.....	20
1.1.3 Biologické markery v moči.....	21
1.1.4 Biologické markery v tracheálním aspirátu.....	21
1.1.5 Predikce pomocí klinických parametrů.....	21
1.3 Interleukin-6 a systémový zánět u novorozenců.....	22
1.3.1 Interleukin-6.....	22
1.3.2 Systémový zánět u novorozenců.....	22
2. Cíle práce	24
2.1 Hypotézy.....	24
3. Metody	25
3.1 Charakteristika souboru.....	25
3.2 Sérové hladiny IL-6.....	25
3.3 Definice proměnných.....	26
3.4 Oxygenoterapie a optimální saturační rozmezí.....	29
3.5 Terapie syndromu dechové tísně surfaktantem.....	29
3.6 Statistická analýza.....	29
4. Výsledky	30
4.1 Popisná statistika a porovnání skupin.....	30
4.2 Časná a pozdní systémová zánětová odpověď.....	43
4.3 Dynamika časně systémové zánětové odpovědi.....	44
4.4 Logistická regrese.....	45
4.5 ROC křivky a mezní hodnoty.....	47

5. Diskuze	49
5.1 Charakteristiky studované populace.....	50
5.2 Srovnání proměnných u pacientů s CLD a pacientů bez CLD.....	55
5.3 Systémová zánětová odpověď a infekční komplikace.....	57
5.4 Dynamika časně zánětové odpovědi a riziko CLD.....	58
5.5 Logistické regresní modely.....	59
5.6 Predikce CLD pomocí mezních hodnot IL-6 v séru.....	59
5.7 Limitace výzkumné práce.....	60
6. Závěr	61
7. Literatura	62
8. Seznam zkratk	75
9. Přílohy	77

Abstrakt

Dlouhodobý trend v poklesu novorozenecké mortality je doprovázen vysokou morbiditou u velmi nezralých novorozenců. Mezi nejzávažnější morbidity spojené s předčasným narozením patří bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců (BPD/CLD), vzhledem k řadě těžkých následků a zvýšené mortalitě v kojeneckém věku. BPD/CLD je chronické respirační onemocnění asociované s řadou rizikových faktorů, včetně postnatální systémové zánětové odpovědi. Definice systémového zánětu u novorozenců je ovšem značně variabilní a obvykle vychází z různých kombinací klinických a laboratorních parametrů.

Cílem práce bylo analyzovat roli systémového zánětu u novorozenců, vyjádřeného sérovou hladinou interleukinu (IL)-6, v predikci rozvoje BPD/CLD. Studovaná populace byla rozdělena na pacienty se střední a těžkou formou CLD a bez, s ohledem na dlouhodobý *outcome*. Hodnocena byla časná vrcholová hodnota v prvních 24.hodinách po narození a pozdní vrcholová hodnota ve věku nad 7 dnů po narození. K predikci rozvoje CLD byly konstruovány binární modely logistické regrese („*stepwise forward*“). Následovala analýza *receiver operating characteristic* křivek a plochy pod křivkami s identifikací optimálních mezních hodnot.

V předložené práci je demonstrován význam především časně systémové zánětové odpovědi v rozvoji CLD. Revize rizikových faktorů umožnila detekovat překvapivou roli monochoriální komponenty vícečetné gravidity. Pacienti se sérovou hladinou pod 175 ng/l v prvních 24.hodinách po narození mohou být, při absenci dalších rizikových faktorů, vhodnými kandidáty spíše pro nezařazení do intervenčních studií zaměřených na prevenci rozvoje CLD.

Klíčová slova: velmi nezralý novorozenec, chronická plicní nemoc novorozenců, interleukin-6, systémová zánětová odpověď

Abstract

The long-term trend in the decline of neonatal mortality is accompanied by high morbidity in very preterm neonates. Bronchopulmonary dysplasia/neonatal chronic lung disease (BPD/CLD) is one of the most serious morbidities associated with preterm birth, due to a number of severe consequences and increased mortality in infancy. BPD/CLD is a chronic respiratory disease associated with a number of risk factors, including the postnatal systemic inflammatory response. However, the definition of systemic inflammation in neonates is highly variable and is usually based on various combinations of clinical and laboratory parameters.

The aim of the study was to analyze the role of systemic inflammation in newborns, expressed by serum levels of interleukin (IL) -6, in predicting the development of BPD/CLD. The study population was divided into patients with moderate and severe CLD and without, with respect to long-term outcome. Early peaks in the first 24 hours after birth and late peaks over 7 days after birth were evaluated. Binary models of logistic regression (stepwise forward) were constructed to predict the development of CLD. This was followed by analysis of the receiver operating characteristic curves and the area under the curves with the identification of optimal limit values.

In conclusion, we demonstrated the importance of the early systemic inflammatory response in the development of CLD. The revision of risk factors revealed the surprising role of the monochorionic component of multiple pregnancy. Patients with serum levels below 175 ng / l in the first 24 hours after birth may be, in the absence of other risk factors, more suitable candidates for non-inclusion in interventional studies to prevent the development of CLD.

Key words: very preterm newborn, neonatal chronic lung disease, interleukin-6, systemic inflammatory response

1. Úvod a přehled problematiky

1.1 Bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců

1.1.1 Definice bronchopulmonální dysplázie/chronické plicní nemoci novorozenců

Bronchopulmonální dysplazii (BPD) poprvé popsal Northway a kol. v roce 1967 jako chronické plicní onemocnění nezralých novorozenců léčených na jednotce intenzivní péče především oxygenoterapií a umělou plicní ventilací¹. Typické symptomy zahrnovali emfyzém, chronický zánět v dýchacích cestách, heterogenní postižení plic a fibrózu. Většina pacientů se rekrutovala ze skupiny novorozenců porozených nad 30.týdnem těhotenství a s porodní hmotností nad 1000 gramů. Následný vývoj v perinatální a neonatální medicíně zahrnující především antenatální steroidní kúry k akceleraci plicního zrání, terapii exogenním surfaktantem, dramatické posuny v resuscitační praxi, taktice invazivní i neinvazivní ventilační podpory nebo parenterální a enterální nutrice, změnil epidemiologii BPD². Pokles mortality a morbidit novorozenců porozených nad 30.týdnem těhotenství je doprovázen poklesem mortality u novorozenců porozených mezi hranicí viability (24 týdnů gestace v ČR) a dokončeným 30.týdnem. Ve skupině těžce nezralých novorozenců je ovšem morbidita vysoká a incidence BPD tak spíše stoupá³. V Evropě je incidence i nad 30 % ve většině zemí u novorozenců porozených pod 30. týdnem těhotenství⁴.

V současnosti je definice BPD, shrnutá v **Tabulce 1**, konsenzuální, založená na hodnocení klinických parametrů v konkrétních dnech po narození⁵. Termín BPD je často nahrazován termínem chronická plicní nemoc novorozenců (CLD), případně jsou udávány oba (BPD/CLD). Jakkoliv užitečná aktuální definice je, vzhledem k potřebě konzistence v klinickému výzkumu a hodnocení vývoje pacientů, nepostihuje kompletní spektrum tíže onemocnění (tzv. „super-těžké“ formy, **Obr. 1**) a přichází relativně pozdě, 28. den po narození. Dlouhodobé vývojové následky mírné formy BPD/CLD se navíc zdají být srovnatelné s původně nezralými novorozenci bez onemocnění⁶. Jako nejcitlivější indikátor chronické respirační insuficience a vysokého rizika závažných vývojových poruch se jeví nároky na kyslík nebo ventilační podpora ve věku 36., případně 40. týdnů postkoncepčního stáří⁶. Tato zjištění vedou ke snahám upravit stávající definici nejen s ohledem na dlouhodobé následky, ale i se zohledněním nových modalit ventilační podpory u novorozenců⁷. Centrem zájmu se tak stávají střední a těžká forma CLD definované nejen nároky na kyslík, ale i dlouhodobou závislostí na invazivním i neinvazivním typu ventilační podpory.

Tab. 1: Konsenzuální diagnostická kritéria BPD/CLD (převzato z Ehrenkranz et al. ⁵)

Gestační stáří při narození	<32. týden	≥ 32. týden
Čas hodnocení	36. týden (postkoncepčně)	> 28. den, ale <56. den po narození/den propuštění
Oxygenoterapie a/nebo ventilační podpora 28. den po narození		
Mírná forma	Bez nároků na kyslík 36.týden/v den propuštění	Bez nároků na kyslík 56. den po narození/den propuštění
Střední forma	Kyslíkové nároky <30 % 36.týden/v den propuštění	Kyslíkové nároky <30 % 56. den po narození/den propuštění
Těžká forma	Kyslíkové nároky ≥ 30 % a/nebo ventilační podpora 36.týden/v den propuštění	Kyslíkové nároky ≥ 30 % a/nebo ventilační podpora 56. den po narození/v den propuštění

Obr. 1 RTG plic ve věku 36 týdnů (postkoncepčně) u pacienta s extrémně závažnou formou BPD/CLD, původně týden těhotenství 24+4, porodní hmotnost 730 g. Na snímku jsou patrné emfyzematózně-bulózní změny a hyperinflace oboustranně. Zdroj: archiv ÚPMD



1.1.2 Patofyziologie alterace vývoje plic po předčasném porodu

Fyziologický vývoj plic směřuje k výměně plynů mezi dýchacími cestami a vaskulárním lůžkem. Obvykle je rozdělen do pěti stádií, konkrétně na stádium embryonální, pseudoglandulární, kanalikulární, sakulární (terminálních váčků) a alveolární. V embryonálním stádiu (4. – 7. týden gestace) se formuje bronchopulmonální výchlipka z ventrální strany předního střeva. Pseudoglandulární stádium je charakterizováno větvením bronchopulmonální výchlipky (gemma bronchialis primaria) a končí po 17. týdnech gestace. Následuje stádium kanalikulární, během něhož dochází k formování terminálních větví bronchiálního stromu, diferenciaci pneumocytů I. a II. typu, dalšímu vývoji vaskulárního lůžka a mesenchymu. Na konci kanalikulárního stádia, okolo 24. týdne gestace, je teoreticky možná výměna plynů. V sakulárním stádiu, které trvá až do konečné fáze těhotenství, se dále vyvíjí primitivní alveoly, zvyšuje se produkce surfaktantu a zužuje se alveolokapilární membrána. Následné alveolární stádium trvá minimálně do dětského věku, dle některých zdrojů až do ranné dospělosti ⁸.

Předčasný porod pacienta v pozdním kanalikulárním/časném sakulárním stádiu vývoje plic vede k jeho narušení ve smyslu poruchy alveolarizace (septace), angiogeneze a změn struktury extracelulární matrix. Výsledkem je kombinace alveolární hypoplazie, fibrózy stěn terminálních váčků (primitivních alveolů), abnormalit vaskulárního lůžka, chronických zánětlivých změn a remodelace extracelulární matrix na základě nerovnováhy v produkci růstových faktorů ⁹. Míra těchto změn je silně asociována s řadou klíčových rizikových faktorů¹⁰, shrnutých v tabulce 2.

Tab. 2: Klíčové rizikové faktory rozvoje BPD/CLD (převzato ze Shazhad et al. ¹⁰)

Pre/perinatální rizikové faktory	Postnatální rizikové faktory
Nezralost plic	Umělá plicní ventilace
Deficience surfaktantu	Oxygenoterapie
Chorioamniitida/adnátní infekce	Postnatální infekce
Genetická predispozice	Malnutrice
Insuficience placenty	„Fluid overload/management“

Pro mapování patofyziologie alterace vývoje plic po předčasném porodu na molekulární úrovni jsou zásadní animální modely¹⁰, případně recentní výzkum na organoidech¹¹. Identifikace narušených signalizačních kaskád ukazuje na velmi těsné propojení poruchy angiogeneze, septace a kompozice extracelulární matrix. Nepochybná je zásadní role dráhy vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), která vedla k formulování tzv. vaskulární hypotézy BPD¹². Podání specifických protilátek, nebo zablokování exprese VEGF u „*knock-out*“ myši v konečném důsledku narušilo alveolarizaci¹². U animálních modelů BPD indukce angiogeneze podáním VEGF alveolarizaci stimuluje⁹. Aktivace exprese VEGF je spouštěna produkcí hypoxií indukovatelného faktoru (*hypoxia-inducible factor*, HIF), jehož downregulace byla popsána u animálního modelu BPD (pavián) vyvolané předčasným porodem a oxygenoterapií. VEGF navíc moduluje expresi růstových faktorů ze skupiny stimulující fibroblasty (*fibroblast growth factor*, FGF), které řídí signalizaci mezi epiteliálním a mezenchymálním kompartmentem, stimulují produkci elastinu a hrají klíčovou roli v alveolární morfogenezi¹³. Kompozice extracelulární matrix (ECM) ovlivňuje angiogenezi působením kostních morfogenních proteinů (*bone morphogenic proteins*, BMP), jež jsou součástí drah transformujících růstových faktorů β (*transforming growth factor*, TGF- β), a které podporují angiogenezi například zvýšením exprese receptoru pro VEGF (VEGF-R2). Změna signalizace v dráze TGF- β /BMP byla popsána také u zvířecích modelů BPD indukovaných expozicí umělé plicní ventilaci a hyperoxémií. Excesivní aktivace TGF- β vede k indukci apoptózy a poruše proliferace a migrace fibroblastů i endoteliálních buněk⁹. Naznačená komplexita vývojové patofyziologie navíc naráží na limity animálních modelů BPD vzhledem k histopatologickým rozdílům, jež vycházejí z odlišných vývojových trajektorií např. u myši a člověka^{9, 14}. Lepší pochopení procesů rozvoje BPD/CLD a identifikaci případných terapeutických cílů slibují experimenty na plicních organoidech, konkrétně třídimenzionální struktury lidských fetálních plicních fibroblastů¹⁴. Byla potvrzena role signalizační dráhy Wnt/ β -katenin v přechodu mezi kanalikulárním a sakulárním stádiem vývoje plic, v němž za normálních okolností dochází k dramatickému poklesu nukleárního fosforylovaného β -kateninu, ovšem po expozici hyperoxii a hypoxii k tomuto poklesu nedochází, podobně jako v případě exogenní stimulace Wnt/ β -katenin kaskády. Následkem je patologická aktivace fibroblastů a nadprodukce konečných produktů kaskády, např. matrix metaloproteináz (MMP), detekovaných v několika animálních modelech BPD⁹. Perzistence fosforylovaného β -kateninu tak představuje robustní marker aktivace fibroblastů a případného rozvoje BPD. Navíc inhibice tyrosin kinázy snižující fosforylaci β -kateninu tak představuje jeden z atraktivních terapeutických cílů identifikovaných základním výzkumem¹⁴.

1.1.3 Role zánětu v rozvoji BPD/CLD

Zánět je silně asociován s rozvojem BPD/CLD a představuje klíčový rizikový faktor prenatálně, perinatálně i postnatálně¹⁵. Iniciální fáze zánětu je charakterizována migrací neutrofilů a makrofágů. Zároveň narůstá množství cytokinů obecně, včetně těch, které dále atrahují buňky zánětlivé odpovědi, produkovaných epiteliálními i endoteliálními buňkami a samotnými polymorfonukleáry a makrofágy. Asociace mezi zvýšením prozánětlivých cytokinů (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) v tracheálním aspirátu nezralých novorozenců a pozdějším rozvojem BPD/CLD byla demonstrována opakovaně. Úměrně k tomuto zvýšení prozánětlivých cytokinů je v tracheálních aspirátech sníženo množství protizánětlivých cytokinů (např. IL-10) a řady zásadních růstových faktorů, jako VEGF a FGF¹⁶. Pro vysokou míru aktivace zánětu svědčí i přítomnost aktivovaného nukleárního faktoru kappa B (NF- κ B) v neutrofilech a makrofázích ze zmíněných tracheálních aspirátů¹⁵.

Hlavní příčinou fetální zánětlivé odpovědi, předčasného porodu a předčasného odtoku plodové vody je chorioamniitida, především infekční etiologie¹⁵. Mikroorganismy nejčastěji izolované z amniální tekutiny a/nebo placenty po předčasném porodu jsou *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis* a mikroorganismy kolonizující dutinu ústní matky^{15, 17}. U pacientů s BPD byli histologické známky zánětu v placentě častější oproti kontrolám. Elevace prozánětlivých cytokinů v amniální tekutině koreluje s jejich elevací v bronchoalveolární laváži po narození a následným rozvojem BPD/CLD. V plicní tkáni mrtvorozených při histologicky potvrzené chorioamniitidě je zvýšené množství makrofágů a neutrofilů, MMP (konkrétně MMP-8 a MMP-9) a snížená proliferace, naznačující spojení mezi zánětem placenty a narušením vývoje plic¹⁵. Asociace chorioamniitida a postnatálního rozvoje BPD/CLD nicméně zůstává po provedení několika metaanalýz kontroverzní, na rozdíl od adnatní sepse¹⁸.

Postnatálních příčin lokální i systémové zánětlivé odpovědi je několik. Nejprve dochází k expozici oxygenoterapii a umělé plicní ventilaci (UPV) v rámci resuscitační péče po narození. Zvířecí modely i klinická data jasně demonstrují iniciaci zánětlivé odpovědi hyperoxémií. Podobně volutrauma, případně nedostatečné dechové objemy, při umělé plicní ventilaci stimulují migraci buněk zánětu¹⁵. Syndrom dechové tísně novorozenců (RDS) s nutností terapie exogenním surfaktantem, jako důsledkem nezralosti a nepřipravenosti plicního parenchymu k výměně plynů, je také asociován s rozvojem systémové zánětlivé odpovědi¹⁹. V případě komplikací RDS jako je plicní intersticiální emfyzém, pneumotorax nebo plicní apoplexie je riziko rozvoje BPD/CLD podstatně vyšší, často v souvislosti s nutností potřeby

dlouhodobé umělé plicní ventilace. Zánětovou odpověď přirozeně spouští také různé typy infekčních komplikací, především nozokomiální sepsis a pneumonie.

Migrace makrofágů a neutrofilů do intersticia a alveolů je spojena se sekrecí proteáz a volných kyslíkových radikálů poškozujících okolní tkáň. Dochází ke zvýšenému odbourávání elastinu a narušení struktury extracelulární matrix i díky dysregulaci remodelačních mechanismů (TGF- β /BMP). Zároveň nezralost plicní tkáň znamená nedostatečnou expresi antiproteáz a relativní deficienci antioxidantů jako superoxid dismutáza nebo glutathion peroxidáza, tudíž větší míru zranitelnosti k oxidativnímu stresu a zánětlivým působkům⁹. Funkční nezralost neutrofilů a makrofágů u nezralých novorozenců přispívá k chronicitě lokální zánětlivé odpovědi^{15, 20}. Polymorfonukleáry novorozenců, u nichž později došlo k rozvoji BPD, mají výrazně nižší tendenci k apoptóze a delší přežití ve srovnání s novorozenci, u nichž k rozvoji BPD nedošlo²¹. Tento vztah je umocněn korelací mezi sníženou mírou apoptózy neutrofilů a klesajícím gestačním stářím. Nedostatečná diferenciací makrofágů u nezralých novorozenců může vést ke snížené produkci protizánětlivých cytokinů (IL-10) a neefektivní efferocytóze²⁰. Navíc dlouhodobá predominantní přítomnost makrofágů v dýchacích cestách je charakteristická pro cytologický obraz zánětu u animálních modelů i pacientů s BPD¹⁵.

Centrální role zánětu v rozvoji BPD/CLD je považována za nepochybnou i vzhledem k prokázané vysoké aktivitě průsečíku intracelulární zánětlivé odpovědi, jímž je NF- κ B, v několika různých zvířecích modelech BPD¹⁰. Funkce NF- κ B během vývoje plic jsou ovšem značně komplexní a jeho exprese je téměř všudypřítomná. Zahrnuje prozánětlivé i protizánětlivé efekty a je důležitá pro fyziologicky probíhající angiogenezi a alveolarizaci²². Případným terapeutickým cílem by tak nebyla inhibice NF- κ B, ale spíše modulace jeho signální dráhy.

Chronické zánětlivé změny vedoucí k rozvoji plicní fibrózy a plicní hypertenze jsou asociovány s dlouhodobou přítomností makrofágů v tracheálních aspirátech a vysokou aktivitou signální dráhy TGF- β . Jedním z konečných důsledků této aktivace je extenzivní depozice kolagenu, elastinu a fibronektinu v extracelulární matrix¹⁵.

1.1.4 Rizikové faktory rozvoje BPD/CLD

Rizikové faktory onemocnění jsou v literatuře prezentovány různými způsoby ve smyslu mnoha různých statistických parametrů. Mezi absolutní parametry patří například incidence, prevalence, nebo šance. Jsou chápány jako následek určité expozice. Poměrně často jsou prezentovány relativní parametry, např. poměr šancí, nebo rizik. Interpretace relativních

parametrů může být ovšem zavádějící bez znalosti absolutních čísel. Relativní riziko 3.0 znamená, že exponovaná skupina má oproti neexponované trojnásobnou pravděpodobnost rozvinout onemocnění, ale pokud to v absolutním vyjádření znamená posun rizika z 0,01 (0,1 %) na 0,03 (0,3 %), nemusí být praktický význam velký. U multifaktoriálních onemocnění typu BPD/CLD je výhodné uvádět tzv. atributivní riziko nebo podíl atributivního rizika, které udává počet onemocnění v exponované skupině, respektive procentuální podíl nemocných v exponované skupině. Dalším problémem je interpretace asociací v příčinných souvislostech. Komplexní onemocnění typu BPD/CLD má s vysokou pravděpodobností minimálně několik dílčích příčin, z nichž některé jsou neznámé, některé nekvantifikovatelné a některé časově omezené. V neposlední řadě může být zavádějící nejednotná definice onemocnění/sledovaného následku expozice a prakticky výhradně retrospektivní analýza dat u prací zaměřených na rizikové faktory BPD/CLD²³.

Fetální a postnatální růstová restrikce

Fetální růstová restrikce definovaná jako porodní hmotnost více než jedna standardní odchylka pod mediánem u extrémně nezralých novorozenců zvyšuje riziko rozvoje BPD²⁴. Relativní riziko pro novorozence mezi 25. a 28. týdnem gestace je dvojnásobné (14 % vs. 28 %), podobně jako riziko neonatální mortality (11 % vs. 23 %). Důvodem jsou pravděpodobně dopady fetoplacentární insuficience, jako je chronická intrauterinní hypoxémie, kompromitující fetální vývoj, včetně vývoje plic. U zvířecích modelů fetální růstové restrikce byla demonstrována deficiencie v produkci surfaktantu, zvýšená zánětlivá odpověď a porucha angiogeneze²⁵.

Postnatální porucha růstu, která je velmi častá u extrémně nezralých z důvodu obtížné optimalizace nutrice především v případě kritického stavu, ovlivňuje tíži onemocnění v případě BPD²⁶. Kritickým obdobím se jeví být první postnatální týden. Animální model (myš) postnatální růstové restrikce byl charakterizován normální alveolarizací, narušenou angiogenezí a sníženou expresí HIF a VEGF²⁷.

Genetická predispozice

Přestože je BPD/CLD výsledkem kumulativní expozice řadě prenatalních i postnatálních rizikových faktorů (viz. Tab. 2), ze studií na monozygotních a dizygotních dvojčatech vyplývá existence dědičné vulnerability k rozvoji onemocnění²⁵. Retrospektivní analýza více než tří set párů dvojčat přičítá genetické predispozici přibližně 80% podíl na pozorovaném výskytu BPD/CLD při srovnatelném environmentálním vlivu²⁸. Pokusy identifikovat jednonukleotidový polymorfismus, nejčastěji ve skupině genů kódujících proteinovou složku

surfaktantu, jako příčinu popsané genetické predispozice, jsou prozatím úspěšné jen do určité míry²⁵.

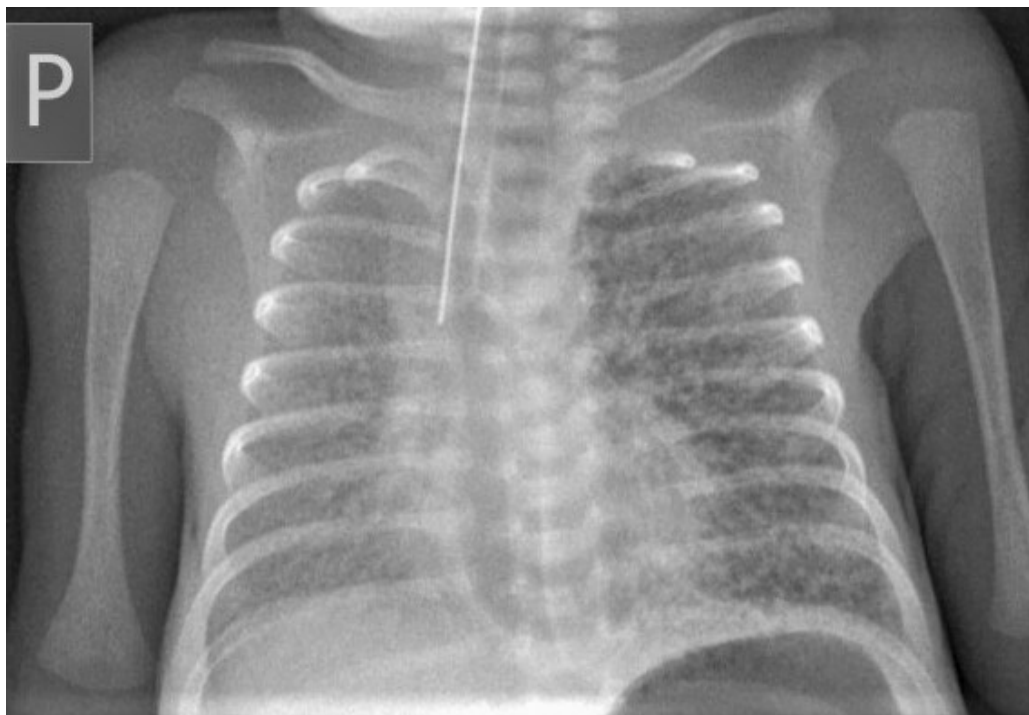
Gestační stáří, porodní hmotnost a pohlaví

Extrémní nezralost (<28. týden gestace) a extrémně nízká porodní hmotnost (<1000 g) jsou zásadní rizikové faktory rozvoje BPD/CLD. Inverzní proporcionalita platí nejen pro incidenci, ale i pro tíži onemocnění dle konsenzuální definice (viz. Tab. 1). 95 % všech pacientů s BPD/CLD se rekrutuje ze skupiny novorozenců s porodní hmotností pod 1250 g. Incidence ve skupině pacientů porozených po dokončení 23. týdne gestace je 73 %, těžká forma představuje 56 %. U novorozenců porozených po dokončení 25. týdne gestace je incidence 55 %, těžká forma představuje 26 %. V případě dokončení 28. týdne je incidence 23 %, těžká forma představuje pouze 8 %²⁹. U chlapců je riziko vyšší než u dívek²³.

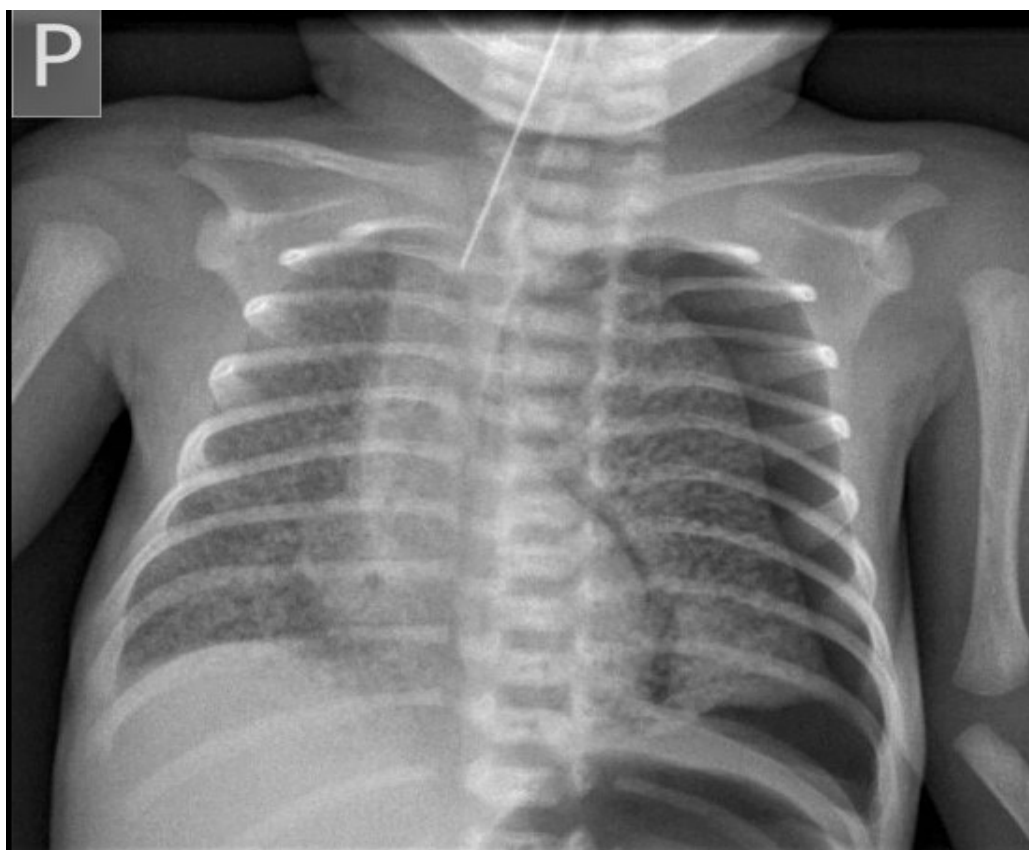
Umělá plicní ventilace

Většina pacientů s BPD/CLD byla alespoň krátce exponována umělé plicní ventilaci, obvykle perinatálně při terapii poruch postnatální adaptace. V terénu nízké *compliance* a nestabilní funkční reziduální kapacity při RDS je u některých pacientů volutrauma jen obtížně preventabilní. Kolapsy a hyperinflace alveolů vedou k jejich poranění a úniku vzduchu perivaskulárně a peribronchiálně, případně subpleurálně. Plicní intersticiální emfyzém a pneumotorax (**Obr. 2, 3**) tak mohou komplikovat stav pacientů, u nichž je v rámci terapie RDS UPV nutná. Následkem UPV je vždy určitá míra epiteliálního poškození s rozvojem lokální, případně systémové zánětové odpovědi²⁵. Význam některých dalších rizikových faktorů rozvoje BPD/CLD vystupuje do popředí až v případě kombinace s expozicí UPV. Zatímco samostatně je asociace chorioamniitidy a BPD nepřesvědčivá, v kombinaci s umělou plicní ventilací je naopak velmi silná. Pravděpodobně v důsledku zvýšené vulnerability vyplývající z prenatálních zánětlivých změn, které jsou následně při UPV amplifikovány²⁵. Potřeba UPV může vytvořit bludný kruh, kdy následky ve smyslu projevů lokálního zánětu (mukózní produkce v dolních cestách dýchacích, alterace alveolo-kapilární membrány, nehomogenní postižení plicního parenchymu) znemožňují extubaci pacienta a převedení ventilační podpory z invazivní na neinvazivní modalitu. Právě rozdíly v důsledné aplikaci neinvazivních modalit ventilační podpory v rámci terapie poruch postnatální adaptace a dlouhodobé respirační insuficience u nezralých novorozenců pravděpodobně stojí za vysokou mírou variability incidence BPD/CLD mezi perinatologickými centry (10-40 % u pacientů s porodní hmotností <1250 g) ve vyspělých zemích²³.

Obr. 2 RTG plic 24 hodin po narození u pacienta s plicním intersticiálním emfyzémem vlevo, týden těhotenství 26+2, porodní hmotnost 980 g. Na snímku jsou patrné pruhovitá projasnění (voštiny) a hyperinflace vlevo. Zdroj: archiv ÚPMD



Obr. 3 RTG plic 6 hodin po narození, týden těhotenství 27+4, porodní hmotnost 1140 g. Na snímku je patrný pneumotorax vlevo.



Oxygenoterapie

Hyperoxémie je u animálních modelů používána k indukci změn imitujících rozvoj BPD. I v případě poměrně krátké expozice dochází k rozvoji dlouhodobých morfologických a funkčních změn²⁵. K dispozici jsou klinická data naznačující vyšší riziko rozvoje BPD právě i po krátké expozici hyperoxémii v rámci postnatální resuscitace³⁰.

Terapie syndromu dechové tísně novorozenců surfaktantem

Intratracheální podání exogenního surfaktantu je klíčovou součástí terapie syndromu dechové tísně novorozenců (RDS). Incidence RDS (**Obr. 4**) je nepřímo úměrná gestačnímu stáří. U pacientů narozených po 28. týdnech a méně dosahuje 90 %, nicméně u všech není podání surfaktantu nezbytné a od profylaktického podání se v současnosti ustupuje³¹. Přestože je podání surfaktantu asociováno s rozvojem BPD/CLD jde o odraz tíže RDS, především v případě nutnosti UPV. Při srovnání léčby RDS neinvazivní ventilační modalitou bez a s neinvazivním podáním surfaktantu byl zaznamenán spíše protektivní vliv této terapie ve smyslu rozvoje CLD³².

Obr. 4 RTG plic 90 minut po narození u pacienta s RDS před podáním surfaktantu (27+4 tt, porodní hmotnost 610 g). Na snímku je patrný negativní bronchoaerogram, snížená transparence a výrazná retikulo-granulární kresba oboustranně. Zdroj: archiv ÚPMD



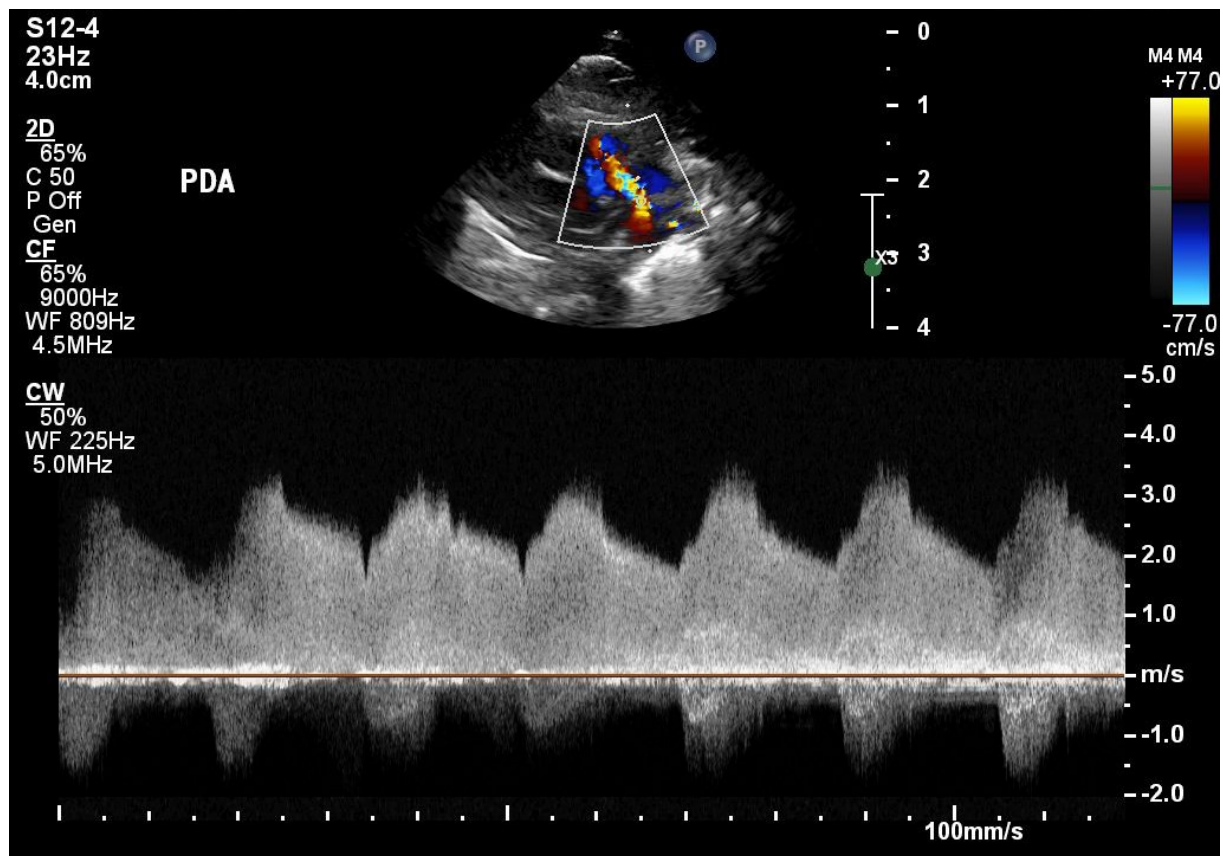
Postnatální infekce

Sepse (časná i pozdní), pneumonie a systémová zánětová odpověď je silně asociována s rozvojem BPD/CLD²³. Riziko rozvoje BPD/CLD je částečně zvýšeno díky nutnosti invazivní ventilační podpory v průběhu infekčních komplikací²⁵. V případě úspěšné redukce výskytu nosokomiálních infekcí dochází i k poklesu incidence CLD³³. Zvýšené sérové hladiny prozánětlivých cytokinů významně korelují se zvýšeným rizikem rozvoje BPD/CLD³⁴.

Perzistující *ductus arteriosus*

Vliv perzistence *ductus arteriosus* (PDA, **Obr. 5**) na rozvoj CLD je kontroverzní. PDA je asociován s prolongovanou UPV, zvýšenou mortalitou a zvýšeným rizikem rozvoje BPD/CLD²³. Tato asociace je zkrácena provázaností PDA, gestačního stáří a celkové tíže onemocnění, tudíž nemusí být kauzální²³. Metaanalýza farmakologického uzávěru PDA podáním ibuprofenu neprokázala snížení incidence BPD/CLD v léčené populaci nezralých novorozenců³⁵. Chirurgický uzávěr PDA je asociován se zvýšením rizika CLD²³. PDA je tak chápán spíše jako významný marker rizika budoucího rozvoje BPD/CLD.

Obr. 5 Echokardiografické zobrazení levo-právěho zkratu via PDA. Zdroj: archiv ÚPMD



1.1.5 Prevence rozvoje chronické plicní nemoci novorozenců

Vzhledem k definici BPD/CLD (viz. Tab. 1) patří většina preventivních kroků do terapeutického spektra extrémní a těžké nezralosti. Výjimkou je prevence předčasného porodu u rizikových těhotenství. Prudkým vývojem prochází taktika ventilační podpory, od farmakoterapie se do značné míry ustupuje. Prenatální steroidní kúry k akceleraci plicního zrání a terapie exogenním surfaktantem snížily mortalitu a tíži průběhu RDS, ale jejich vliv na incidenci BPD prokázán nebyl³.

Ventilační podpora

Snaha o omezení UPV vedla k rozvoji neinvazivní ventilační podpory, konkrétně nazálně aplikovaného tlaku do dýchacích cest (*nasal continuous airway pressure*, nCPAP), a technik podání surfaktantu s pouze krátkodobou, případně zcela eliminovanou UPV. První způsob představuje metodika INSURE (*INtubation-SURfactant-Extubation*) s extubací pacienta do 30 minut po podání surfaktantu. Druhým způsobem je LISA (*Less Invasive Surfactant Administration*) bez nutnosti umělé plicní ventilace³¹. Trend k poklesu incidence BPD vede v praxi k preferenci neinvazivní podpory i u extrémně nezralých³⁶. U řady takových pacientů je ovšem invazivní podpora nevyhnutelná. Nekonvenční ventilace (*high frequency oscillatory ventilation*, HFOV), jakkoli užitečná u těžkých forem akutního respiračního selhání, vedla pouze k minimální redukci BPD při profylaktickém použití s řadou praktických nevýhod³⁷. Objemově cílená UPV zaměřená na minimalizaci volutraumatických změn snižuje nejen incidenci BPD, ale také zkracuje délku UPV, snižuje výskyt peri/intraventrikulární hemoragie a pneumotoraxu³⁸.

Prevence hyperoxémie

Profylaktická oxygenoterapie (100 % kyslík) při závažné poruše adaptace se u donošených novorozenců v rámci resuscitace nedoporučuje. U nedonošených novorozenců pod 32. týden těhotenství nebyl prokázán vliv použití oxygenoterapie po narození na rozvoj BPD³⁹. Profylaktická střední oxygenoterapie (30-60 %) při poruše adaptace u nezralých, případně včasná postupně navyšovaná oxygenoterapie, může zvýšit efektivitu resuscitace a snížit riziko závažných komplikací typu peri/intraventrikulární hemoragie nebo úmrtí⁴⁰.

Naprostě dominující metodou monitoringu oxygenace je v praktické péči nejen o novorozence pulsní oxymetrie. Prevence hyperoxémie se tak někdy redukuje na extenzivní debatu o optimálním saturačním rozmezí. Předpoklad o snížení morbidity ve skupině cílené na nižší

saturační rozmezí (85-89 % vs. 91-95 %) se nepotvrdil, navíc došlo k nárůstu mortality ⁴¹. Potřeba dlouhodobé oxygenoterapie u pacientů s rozvojem BPD/CLD tak spíše odráží celkovou tíži onemocnění, než přímý toxický vliv kyslíku na plicní parenchym ²³.

Permisivní hyperkapnie

Cílem strategie permisivní hyperkapnie je optimalizace nastavení invazivní ventilační podpory, především ve smyslu nejnižších možných dechových objemů. Zároveň je díky této strategii možné časnější ukončení UPV, nebo její úplná eliminace ⁴². Právě úprava kritérií pro zahájení a ukončení UPV se zdá být hlavní příčinou snížení incidence BPD/CLD při implementaci permisivní hyperkapnie. Konkrétně jde o toleranci parciálních tlaků CO₂ 60-65 mmHg v arteriální krvi ⁴².

Kortikosteroidy

Postnatální systémové podání kortikosteroidů snižuje incidenci BPD, ale při podání v průběhu prvního týdne po narození dochází ke zvýšení rizika rozvoje dětské mozkové obrny (DMO). Nadále platí doporučení Americké pediatrické akademie (AAP) tuto terapii rutině nepoužívat ⁴³. V kontrastu s tímto doporučením profylakticky podávaný nízkodávkovaný hydrokortizon snižuje incidenci BPD bez kompromitace neurologického vývoje u extrémně nezralých novorozenců porozených ≤28. týden těhotenství ⁴⁴. Inhalační podání kortikosteroidů ve věku >7 dní po narození je bez prokázaného efektu na rozvoj BPD/CLD u nezralých novorozenců ⁴⁵.

Kofein citrát

Časná terapie kofein citrátem snižuje incidenci BPD. Používá se jako profylaxe apnoe a zvyšuje úspěšnost neinvazivní ventilační podpory. Pravděpodobně snížení expozice UPV je příčinou snížení incidence nejen BPD, ale i retinopatie z nezralosti (ROP) a DMO ⁴⁶.

Vitamin A

Nedostatek vitamínu A může predisponovat k rozvoji BPD/CLD. Jeho suplementace prokazatelně snižuje incidenci u pacientů s porodní hmotností pod 1000 g, ale efekt není velký a repetitivní intramuskulární aplikace u extrémně nezralých krajně nevhodná ⁴⁷.

Inhalační terapie oxidem dusnatým

Inhalační terapie oxidem dusnatým (iNO) byla vnímána jako slibná intervence s potenciálem zabránit rozvoji BPD/CLD u pacientů s těžkou pneumopatií po narození⁴². Významný benefit iNO nebyl prokázán v žádném z použitých terapeutických režimů („*early rescue, early routine, late treatment*“). Při časném použití byla zaznamenána tendence k vyššímu výskytu peri/intraventrikulární hemoragie u nezralých novorozenců s těžkým respiračním selháním⁴⁸. Rutinní použití iNO u nezralých novorozenců se tak v současnosti nedoporučuje⁴⁹.

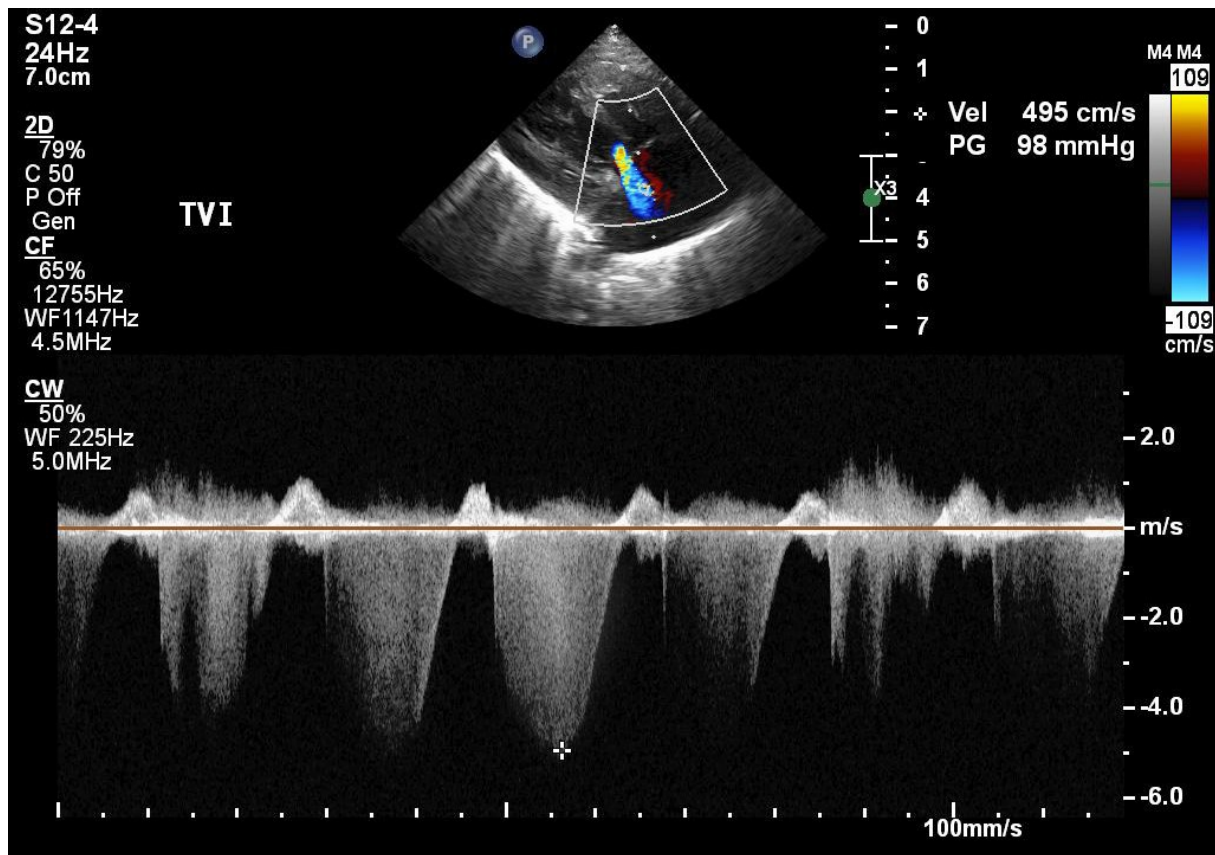
1.1.6 Následky chronické plicní nemoci novorozenců

Dramatický vývoj v neonatální medicíně komplikuje hodnocení dlouhodobých následků BPD/CLD, protože přeživší dospělí jsou výsledkem odlišné péče. Zatímco přeživší z „předsurfaktantové éry“ trpí následky poškození plic UPV a oxygenoterapií, přeživší od počátku devadesátých let minulého století jsou charakterizováni především poruchou vývoje asociovanou se zánětem a extrémní nezralostí⁵⁰. Zkoumané dlouhodobé následky jsou děleny na respirační a vývojové, ale analýza míry a příčin rehospitalizací po propuštění u extrémně nezralých ukazuje širokou paletu důvodů nutnosti další nemocniční péče pacientů s BPD, včetně např. gastrointestinálních⁵¹. Těžší formy onemocnění (střední a těžká) jsou asociovány se zvýšenou mortalitou po propuštění, která dosahuje 20-30 %⁵². Pravděpodobnost syndromu náhlého úmrtí kojenců je u pacientů s BPD/CLD sedminásobná²⁵.

Respirační následky

Dlouhodobé respirační následky vycházejí z rozvoje plicní fibrózy, asymetrie vývoje dýchacích cest a parenchymu (obstrukce zúžených bronchů a bronchiolů) a plicní hypertenze. Alterována je řada funkčních ventilačních parametrů. Usilovně vydechnutý objem za 1 s (FEV1) a usilovná vitální kapacita (FVC) jsou dlouhodobě sniženy⁵³. Z dlouhodobých animálních modelů vyplývá, že strukturální i funkční změny perzistují pravděpodobně celoživotně⁵⁴. Odolnost dýchacích cest je zhoršená ve smyslu častějšího výskytu a těžšího průběhu infekčních komplikací⁵⁰. Mezi další dlouhodobé následky patří astmatická symptomatologie, intolerance fyzické zátěže a abnormální reakce na hypoventilaci a hypoxii v důsledku dysfunkce chemoreceptorů⁵⁵. Přibližně u 30 % pacientů se střední a těžkou formou BPD dochází k rozvoji arteriální plicní hypertenze (PH, **Obr. 6**), která dále zvyšuje mortalitu⁵⁶.

Obr. 6 Echokardiografické zobrazení extrémního gradientu insuficience trikuspidální chlopně při plicní hypertenzi u novorozence. Zdroj: archiv ÚPMD



Vývojové následky

BPD/CLD je asociována s opožděním vývoje, narušením hrubé i jemné motoriky, alterací kognice a rozvojem DMO. Inteligenční kvocient ve školním věku je snížen nejen oproti zdravým kontrolám, ale i ve srovnání s původně extrémně nezralými bez BPD⁵⁰. Hlavním rizikovým faktorem pro horší neurologický *outcome* ovšem není závislost na kyslíku/ventilační podpoře v postkoncepčním stáří 36 týdnů, ale délka UPV, která díky změnám v taktice ventilační podpory klesá. V relativně recentních kohortách pacientů s BPD/CLD je zaznamenáván pokles incidence DMO, který je tomuto faktu přičítán⁵⁷.

1.2. Diagnostika a predikce chronické plicní nemoci novorozenců

Potřeba časně predikce vývojového onemocnění typu BPD/CLD je zřejmá. 28. den po narození je řada pacientů ve fázi plně rozvinutého onemocnění a klinický *management* je mimořádně obtížný s ohledem na limitované možnosti bezpečné terapeutické intervence. Existuje celá řada systémů kalkulace rizika podle klinických parametrů⁵⁸. Výzkum zaměřený na predikci

BPD/CLD pomocí biologických markerů je extenzivní ⁵⁹. Přesto se v současnosti v praxi nepoužívá systém predikce, z něhož by vyplývali konkrétní terapeutické kroky. Standardně uváděné veličiny u biologických markerů onemocnění jsou senzitivita (pravděpodobnost, že marker bude pozitivní u nemocných), specificita (pravděpodobnost, že marker bude negativní u zdravých) a plocha pod ROC křivkou (*area under the curve*, AUC). ROC křivka znázorňuje vztah mezi senzitivitou a specificitou pro všechny *cutt-off* hodnoty kvantitativní proměnné/biologického markeru. Test, jehož AUC je $>0,75$, je možné považovat za uspokojivý, ale využití naleznou spíše markery s hodnotami $>0,85 - 0,9$. V současné klinické praxi nejsou k dispozici dostatečně silné a běžně dostupné biologické markery predikující rozvoj BPD obecně, případně rozvoj středně těžké a těžké formy onemocnění ⁶⁰.

1.2.1 Biologické markery v séru

Většina biologických markerů v krvi jsou proteiny asociované s imunitou, zánětem, nebo oxidativním stresem. Materiál je relativně snadno dostupný (především u pupečnickové krve), nicméně množství je výrazně limitované (odběry u novorozenců) a měření hladin cytokinů a růstových faktorů nemusí nutně reflektovat jejich působení a množství v plicním parenchymu⁵⁹. Detekce typicky probíhá v prvním týdnu po narození.

První velkou skupinou jsou markery asociované se zánětlivou odpovědí. V rozsáhlé prospektivní analýze byla popsána asociace rozvoje BPD (hodnocený *outcome* byl BPD nebo smrt) s vyšší hladinou některých cytokinů (např. IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ) a sníženou hladinou jiných (např. IL-17, TNF- β). Bohužel tato data nijak zásadně nenavýšila úspěšnost prediktivních modelů založených na klinickém hodnocení ⁶¹. Pravděpodobnou příčinou je asociace pozdní (>72 hodin po narození) zánětlivé odpovědi s klinickými parametry typu UPV. Druhou skupinu tvoří markery asociované s poruchou angiogeneze. Nízké hladiny angiogenního ANG-1 a vysoké hladiny antiangiogenního endostatínu v pupečnickové krvi mají určitou prediktivní hodnotu, podobně jako zvýšení VEGF v krvi novorozenců 5.den po narození ⁵⁹. Nicméně praktický (terapeutický) dopad je nulový.

Poslední skupinou jsou markery produkované plicními epiteliálními buňkami nebo molekuly působící v extracelulární matrix. Protein produkovaný Clarovými buňkami (*Clara cell protein*, CC16) v respiračních a terminálních bronchiolech se v séru zvyšuje při UPV již dvě hodiny po narození. Zvýšené hladiny 72 hodin po narození jsou silnými prediktory rozvoje BPD se senzitivitou 86 %, specificitou 83 % a AUC 0,91 ⁶². Zvýšený poměr MMP-9 a tkáňového

inhibitoru metaloproteináz - 1 (TIMP-1) v pupečníkové krvi, interpretovaný jako důsledek chorioamniitidy, byl na malém vzorku asociován s rozvojem BPD⁶³.

1.2.2 Biologické markery v moči

Moč je výhodný biologický materiál k analýze, ale přes stabilitu proteinů ve vzorcích, je problémem jejich koncentrační variabilita a nedostatek informací o „normálním nálezu“. Relativně silný prediktor rozvoje BPD je β -2-mikroglobulin ve vzorku odebraném do 48. hodiny po narození. Je asociován se zánětlivými procesy. Senzitivita je 73 %, specificita 83 % a AUC 0,8⁵⁹. V blízké budoucnosti se očekává více metabolomických dat, která mohou asociovat konkrétní profily metabolitů v moči s rozvojem BPD/CLD.

1.2.3 Biologické markery v tracheálním aspirátu

Tracheální aspirát/tekutina z bronchoalveolární laváže jsou odebírány cestou endotracheální kanyly, tudíž jedním z problémů je nedostatek vzorků od „zdravých“ kontrol. Ředění vzorků je často kompenzováno diluční kalkulací podle standardu IgA, urey, nebo celkové bílkoviny, která ovšem při zánětu pravděpodobně stoupá. Testovaných markerů je velké množství. Určitou prediktivní hodnotu mělo zvýšené množství IL-1 β a poměru IL-1 β /IL-6 u pacientů s detekovanou *Ureaplasma urealyticum* v dýchacích cestách⁶³. Zvýšení endotelinu-1, IL-6 a IL-8 bylo na malém vzorku asociováno s rozvojem BPD, podobně jako TGF- β 1⁵⁹.

1.2.4 Predikce pomocí klinických parametrů

Predikčních modelů založených na klinických proměnných je velké množství (> 15). Standardně je součástí hodnocení gestační věk a porodní hmotnost, mezi další proměnné často patří pohlaví, tíže RDS, oběhová stabilita, ventilační podpora a oxygenoterapie v době hodnocení, hodnoty vnitřního prostředí nebo infekční komplikace. Většina z nich je však při externí validaci prakticky nepoužitelná⁵⁸. Nejnadějnější modely predikující BPD/CLD mají AUC 0,7, při kombinovaném *outcome* BPD nebo smrt je maximální AUC 0,74⁵⁸. V současnosti se předpokládá, že úspěšný predikční model bude kombinovat klinické parametry a nové biologické markery.

1.3 Interleukin-6 a systémový zánět u novorozenců

1.3.1 Interleukin-6

Interleukin (IL)-6 je jedním z několika primárních prozánětlivých cytokinů. Je produkován různými typy buněk, včetně makrofágů, fibroblastů, myocytů a endoteliálních buněk, v reakci na infekci a poškození tkáně⁶⁴. Lidský IL-6 tvoří 212 aminokyselin a gen je lokalizován na chromosomu 7p21. Hmotnost základní bílkoviny IL-6 je 20 kDa, po glykosylaci je výsledná hmotnost 21-26 kDa⁶⁴. Po rozpoznání molekul asociovaných s patogením mikroorganismem (*pathogen associated molecular pattern*-PAMP) nebo molekul spojených s poškozením tkání (*damage associated molecular pattern*-DAMP) monocyty a makrofágy, zvyšuje následná aktivace několika signalizačních kaskád, včetně nukleárního faktoru κ B (NF- κ B), produkci IL-6⁶⁴. Syntetizovaný IL-6 je krevním oběhem transportován do jater, kde stimuluje produkci C-reaktivního proteinu (CRP), fibrinogenu a dalších proteinů akutní fáze. Produkce albuminu hepatocyty je naopak inhibována⁶⁴. V kostní dřeni IL-6 stimuluje maturaci megakaryocytů, a tudíž uvolňování trombocytů do krevního oběhu. Zvýšené sérové koncentrace jsou spojeny se systémovým zánětem u dospělých⁶⁵, dětských⁶⁶ a novorozeneckých⁶⁷ pacientů. IL-6 hraje důležitou roli v počátečním stádiu zánětu a lze jej použít jako časný marker vývoje sepse, nástroj pro hodnocení závažnosti sepse⁶⁸ a dokonce jako vodítko pro účinnost léčby antibiotiky⁶⁹ u dospělých pacientů. Kombinace zvýšených sérových hladin IL-6 a CRP je využívána v rutinní časně diagnostice vývoje pozdní novorozenecké sepse⁷⁰.

1.3.2 Systémový zánět u novorozenců

Syndrom systémové zánětové odpovědi (*systemic inflammatory response syndrome*-SIRS) je generalizovaná akutní reakce, charakterizovaná vysokou intenzitou, imunitní deregulací a dysbalancí. SIRS může být vyvolán biologickým, chemickým, nebo fyzikálním inzultem. Podezření, nebo prokázání infekční etiologie SIRS definovalo sepsi u dospělých a pediatrických pacientů pomocí klinických a laboratorních parametrů. Konkrétně abnormitami v tělesné teplotě (febrilie, nebo hypotermie), tepové frekvenci (tachykardie), dechové frekvenci (bradypnoe, nebo hyperventilace), počtu leukocytů (leukocytóza, nebo leukopenie) a zvýšené přítomnosti jejich nezralých forem⁷¹. Od roku 2016 je sepsa definována jako život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená deregulovanou odpovědí na infekci a je diagnostikována skórovacím systémem orgánové dysfunkce, který lépe koreluje s krátkodobou prognózou⁷².

Analogický přístup byl úspěšně implementován u pediatrických pacientů⁷³. U novorozenců jednotná konsenzuální definice sepsy nebo systémového zánětu není k dispozici⁷⁴. Definice systémového zánětu založená na modifikaci výše popsaných klinických a laboratorních parametrů měla jen omezený průnik s diagnózou pozdní, a především časné novorozenecké sepsy⁷⁵. Skórovací systém orgánové dysfunkce u novorozenců dokáže predikovat mortalitu u novorozenců s pozdní sepsí⁷⁶, nicméně na jeho konsenzuálním užití prozatím nebylo dosaženo shody. Definice systémového zánětu u novorozenců je tak značně variabilní a obvykle vychází z kombinace klinických a laboratorních parametrů. Z laboratorních markerů jsou k charakterizaci systémového zánětu u novorozenců nejčastěji používány C-reaktivní protein, prokalcitonin a různé prozánětlivě i protizánětlivě působící cytokiny, ať už samostatně nebo v kombinaci⁷⁷. Pokud je systémový zánět u novorozenců definovaný jako prokázaná (klinické známky a pozitivní hemokultura) nebo pravděpodobná (klinické známky a elevace CRP) sepsy, je významně asociován s alterací celkového a motorického vývoje ve věku dvou let a redukcí délky *corpus callosum* ve třech měsících korigovaného věku⁷⁸.

2. Cíle práce

Prvním cílem práce je poskytnout rozsáhlý přehled recentní literatury zaměřené na patofyziologii, rizikové faktory, diagnostiku a predikci rozvoje BPD/CLD u novorozenců. Druhým cílem je analýza role systémového zánětu vyjádřeného sérovou hladinou IL-6 v časné predikci CLD a stanovení klíčových rizikových faktorů rozvoje onemocnění ve věku 24 hodin a 14 dnů po narození ve studované populaci.

2.1 Hypotézy

A. Hlavním rizikovým faktorem rozvoje BPD/CLD ve věku 24 hodin po narození je gestační věk (příp. porodní hmotnost). Ve věku 14 dnů po narození je to umělá plicní ventilace.

B. Systémová zánětová odpověď v prvních 24.hodinách po narození a ve věku nad 7 dnů po narození je ekvivalentně asociována s rozvojem CLD.

C. Systémová zánětová odpověď u velmi nezralých novorozenců vyjádřená sérovou hladinou IL-6 nepredikuje rozvoj CLD.

3. Metody

3.1 Charakteristika souboru

Retrospektivní kohortová studie realizovaná na novorozeneckém oddělení perinatologického centra, Ústavu pro péči o matku a dítě (ÚPMD) v Praze, Podolí. Protokol studie byl schválen etickou komisí ÚPMD (03/2014). Písemný informovaný souhlas s anonymním použitím klinických údajů byl získán od rodičů každého pacienta.

Kritéria pro zařazení do studie byla: předčasný porod ≤ 32 týdnů těhotenství, provedená měření sérových hladin IL-6 v průběhu 24. hodin po narození a více než 7 dnů po narození jako součást standardní péče při podezření na infekční komplikaci. Zemřelí a novorozenci s neúplnými laboratorními nebo klinickými záznamy byli vyloučeni.

Byly analyzovány údaje pacientů narozených v ÚPMD od 1.ledna 2015 do 31.prosince 2018.

3.2 Sérové hladiny IL-6

Krevní vzorky byly odebrány ze zavedených arteriálních nebo venózních katetrů u všech pacientů. První vzorek byl odebrán během prvních dvou hodin po porodu. Rutinně byly měřeny markery zánětu, včetně IL-6. Odběr krve se opakoval za 12 až 24 hodin po porodu. Rozdíl mezi oběma měřeními definoval dynamickou komponentu časné systémové zánětlivé odpovědi. Vyšší hladina IL-6 byla definována jako časná vrcholová hodnota. Třetí hodnocené vyšetření muselo být provedeno ve věku více než 7 dní po narození v rámci testování markerů zánětu při podezření na pozdní infekční komplikaci. Nejvyšší zaznamenaná hladina byla definována jako pozdní vrcholová hodnota. Hladina IL-6 v séru byla hodnocena pomocí elektrochemiluminiscenčního imunostanovení (Cobas 6000, modul e601, Roche Diagnostics, Mannheim, Německo). Princip testu je sendvičový. Nejprve je 30 μL vzorku inkubováno s biotinylovanou monoklonální IL-6 specifickou protilátkou. Následuje druhá inkubace, kdy po přidání monoklonální protilátky specifické pro IL-6 značené rutheniovým komplexem a mikročastic potažených streptavidinem, tvoří protilátky s antigeny vzorku sendvičový komplex s antigenem vzorku. Reakční směs je nasáta do měřicí komory, kde jsou mikročastice s navázanými komplexy zachyceny prostřednictvím magnetu. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem. Napětí na pracovní elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem. Výsledky se stanovují pomocí kalibrační křivky, která je specificky vytvořena pro přístroj 2 bodovou kalibrací, a *master* křivky, která se do přístroje

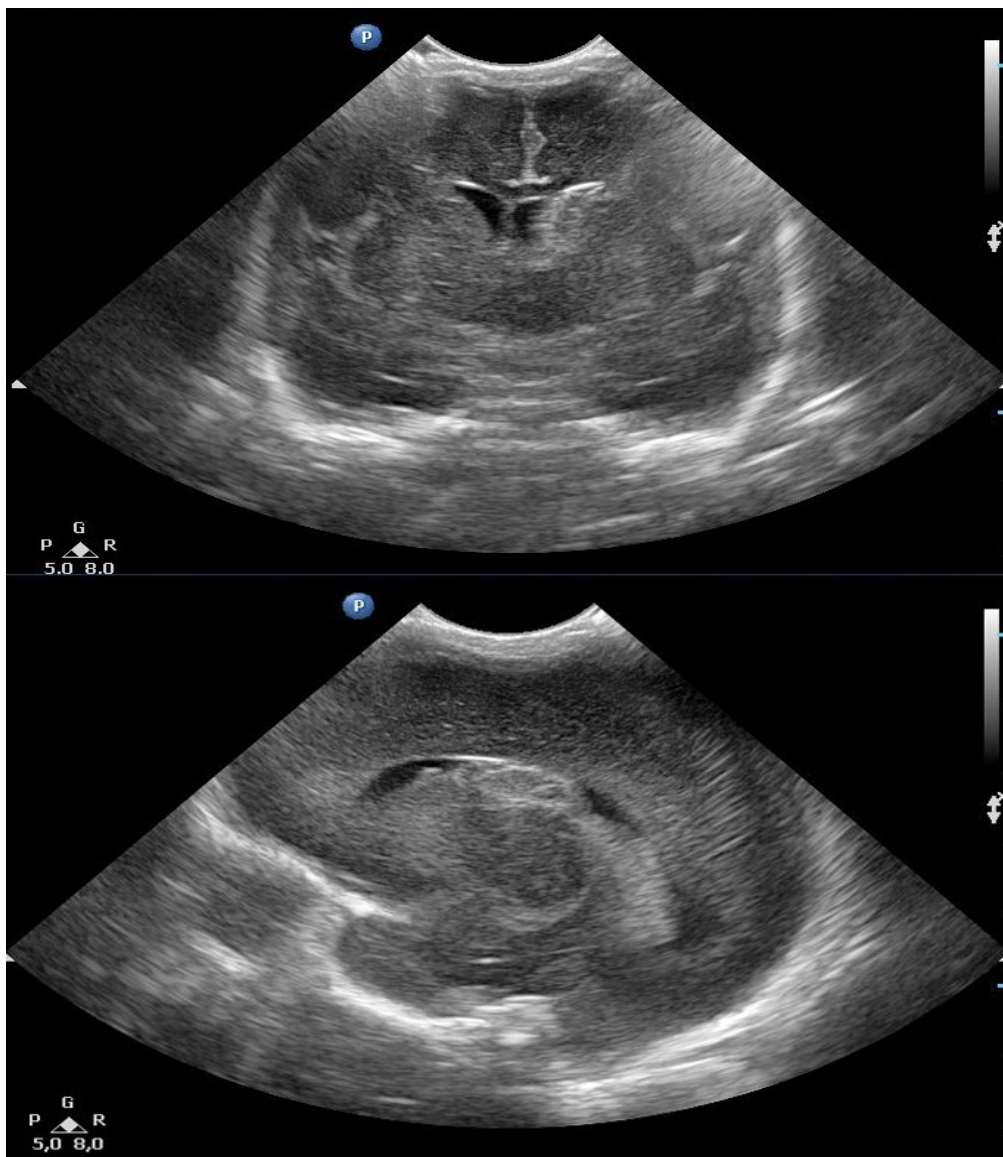
načte z čárového kódu reagentie nebo elektronického čárového kódu. Detekční rozmezí IL-6 bylo 1,5 - 5000 ng/l ⁷⁹.

3.3 Definice proměnných

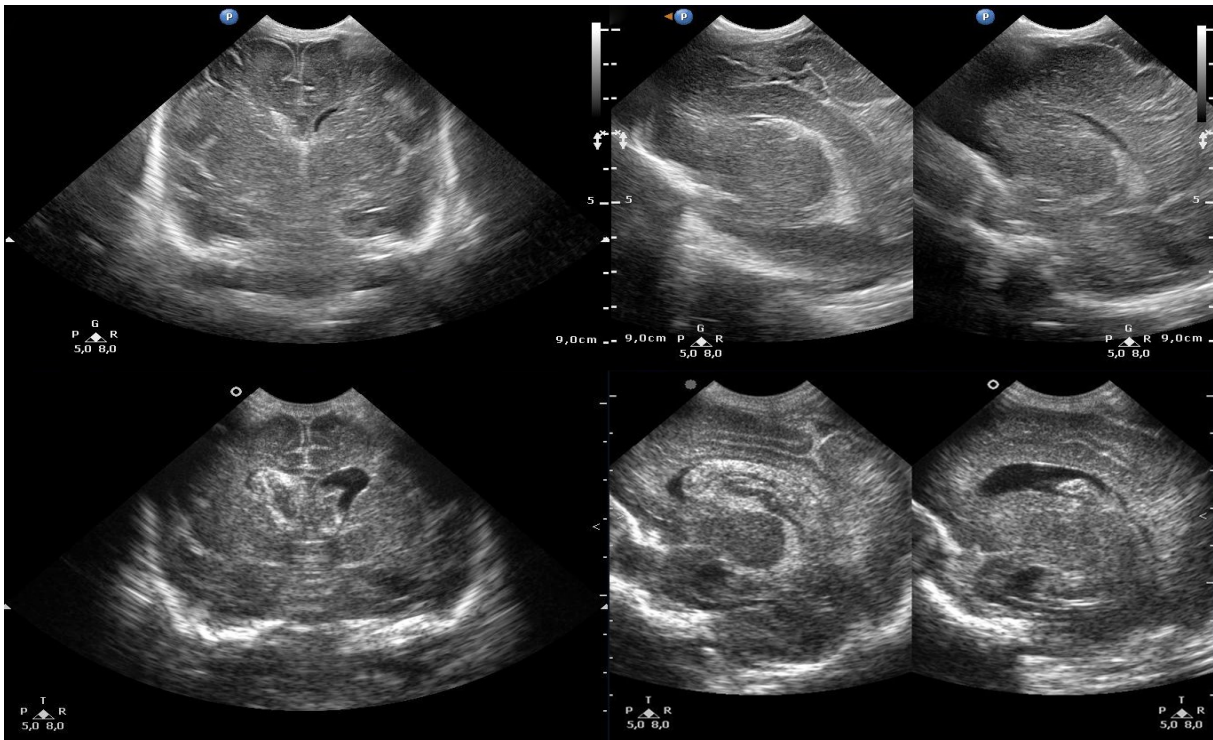
Bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců (BPD/CLD) byla definována dle aktuální mezinárodní konsenzuální definice (viz. Tab.1). Vzhledem k minimálním dlouhodobým následkům mírné formy ⁶ nebyli tito pacienti hodnoceni jako součást skupiny pacientů s CLD. Růstová restrikce plodu bylo diagnostikována prenatálně pomocí 2D sonografie a dopplerovských měření (obvod břicha, odhadovaná hmotnost plodu, end-diastolické proudění v *arteria umbilicalis* a *arteria uterina*) ⁸⁰. Postnatálně byla diagnóza verifikována porodní hmotností pod 10. percentil pomocí růstových grafů dle Fentonové ⁸¹. Definice časně novorozenecké sepsy (EOS) byla založena na nástupu příznaků do 72.hodin po narození, pozitivní hemokultuře a klinických známkách infekce, nebo negativní hemokultuře, klinických známkách infekce, nejméně dvou změnách krevního obrazu konzistentních se sepsí a pozitivním CRP v séru. Pozdní novorozenecká seps (LOS) byla definována nástupem příznaků po 72. hodinách po narození, pozitivní hemokultuře a klinických známkách infekce, nebo negativní hemokultuře, klinických známkách infekce, nejméně dvou změnách krevního obrazu konzistentních se sepsí a pozitivním CRP v séru. Změny krevního obrazu konzistentní se sepsí zahrnují: počet leukocytů $> 20 \times 10^9/l$ nebo $< 5 \times 10^9/l$, poměr nezralých forem leukocytů k celkovému počtu (I/T) $> 0,2$ a počet trombocytů $< 100 \times 10^9/l$. Pozitivní CRP bylo definováno jako hladina v séru $> 10 \text{ mg/l}$. Mezi klinické příznaky infekce patřily: hypotermie, respirační nestabilita (apnoe, poklesy saturace, syndrom dechové tísně s nutností umělé plicní ventilace), oběhová nestabilita (cyanóza, bradykardie, špatná periferní perfúze, hypotenze), intolerance stravy a neurologická symptomatologie (apatie, suspektní křeče) ^{82, 83}. Těžká porucha postnatální adaptace byla definována nutností endotracheální intubace v prvních 15.minutách po narození. Terapie syndromu dechové tísně novorozenců surfaktantem byla prováděna třemi základními metodami. První, nejméně invazivní metodou, byla LISA (*Less Invasive Surfactant Administration*) bez nutnosti umělé plicní ventilace ³¹. Druhou byla metodika INSURE (*Intubation-SURfactant-Extubation*) s extubací pacienta do 30.minut po podání surfaktantu ³¹. Třetí, invazivní, modalitu reprezentuje pokračování v umělé plicní ventilaci po podání surfaktantu déle než 30 minut. V rámci kategorizace terapie surfaktantem byla proměnná rozdělena na pacienty bez nutnosti této terapie, pacienty léčené neinvazivně (LISA, INSURE) a invazivně. Do invazivní kategorie byli zařazeni ti, u nichž bylo nutné pokračovat v UPV a

pacienti, u nichž došlo po aplikaci metodikou LISA, nebo INSURE k respiračnímu selhání s následnou nutností UPV. Hypotenze byla definována nutností podání volumoexpanze nebo katecholaminů, případně steroidní protišokovou terapií v rámci oběhového selhání. Ostatní novorozenecké morbidity, jmenovitě syndrom dechové tísně novorozenců (RDS), perzistující *ductus arteriosus* (PDA), neúrazové nitrolební krvácení novorozenců (PIVH, **Obr. 7-9**), periventrikulární leukomalácie (PVL), nekrotizující enterokolitida (NEC) a retinopatie z nezralosti (ROP) byli definovány podle *Vermont Oxford Network* ⁸⁴.

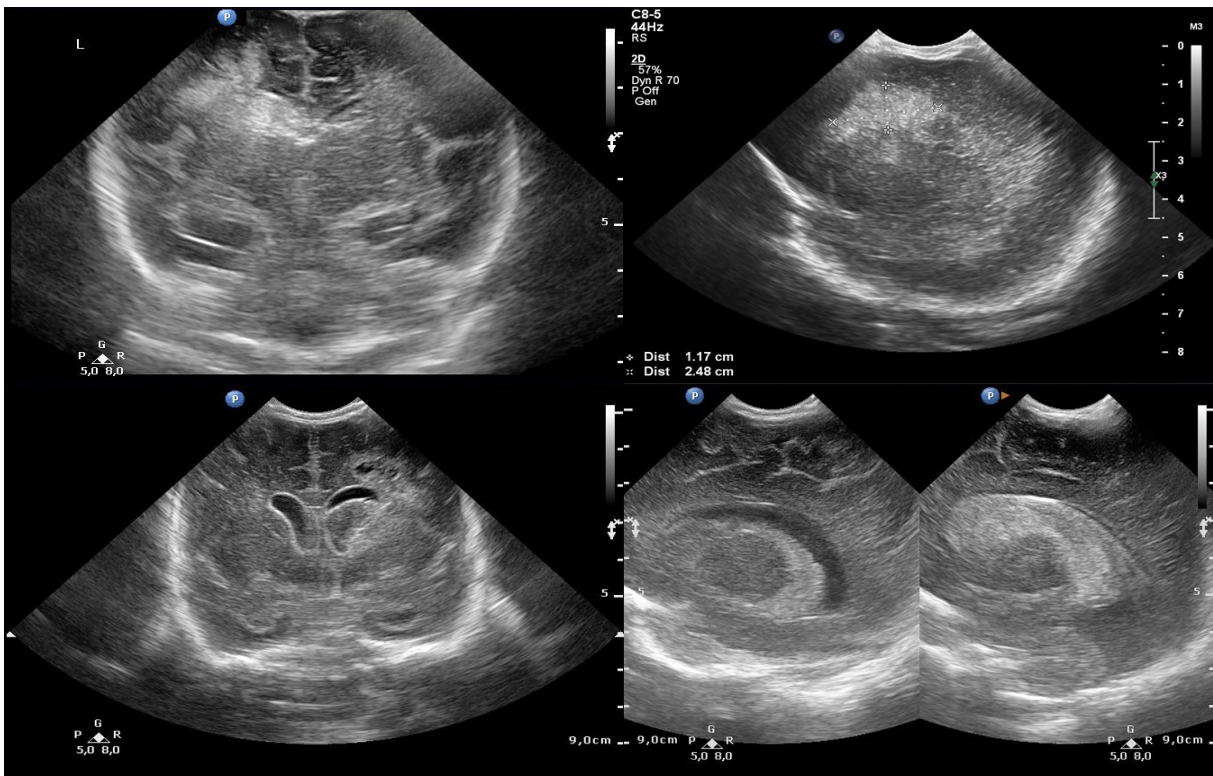
Obr. 7 Ultrasonografické vyšetření CNS u novorozence s nálezem IVH I.stupně. Nahoře koronární projekce (krvácení je patrné jako nehomogenní hyperechogenita v levé postranní komoře), dole parasagitální projekce postižené levé postranní komory. Zdroj: archiv ÚPMD.



Obr. 8 Ultrasonografické vyšetření CNS u novorozence s nálezem IVH II. stupně (nahore) a III. stupně (dole). Vlevo koronární projekce (krvácení je patrné jako hyperechogenita v pravé postranní komoře), dole parasagitální projekce postranních komor. Zdroj: archiv ÚPMD.



Obr. 9 Ultrasonografické vyšetření CNS u novorozence s nálezem PIVH IV. stupně vpravo (nahore) a vlevo (dole). Vlevo koronární projekce (krvácení je patrné jako hyperechogenita v přilehlé bílé hmotě), vpravo parasagitální projekce. Zdroj: archiv ÚPMD.



3.4 Oxygenoterapie a optimální saturační rozmezí

U pacientů s ventilační podporou nebo oxygenoterapií porozených <36. týden těhotenství bylo optimální saturační rozmezí 89-93 %. Z praktických důvodů bylo nastavení limitů alarmového hlášení 87-95 %. Při poklesu pod hranici alarmu, ale ne pod 75 %, byla frakce kyslíku ve vdechované směsi navyšována v krocích o 5-10 %. Při poklesu pod 75 % byla frakce kyslíku ve vdechované směsi navyšována o 10-30 %. Ve specifických klinických situacích (např. syndrom perzistující plicní hypertenze, stav po podání transfuze erymasy) bylo nastavení limitů alarmového hlášení ordinováno ošetřujícím lékařem ve smyslu posunu o dva procentní body vzhůru (limity alarmu 89-97 %, optimální rozmezí 91-95 %).

3.5 Terapie syndromu dechové tísně surfaktantem

Prevence a léčba syndromu dechové tísně novorozenců (RDS) byla prováděna na základě evropského konsenzuálního doporučeného postupu (*European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome*)³¹. U spontánně ventilujících pacientů byla po narození přednostně používána neinvazivní ventilační podpora (*nasal continuous positive airway pressure-NCPAP*) k iniciální stabilizaci. Terapie exogenním surfaktantem byla indikována při selhání neinvazivní ventilační podpory, nebo při nutnosti intubace a zahájení UPV v rámci iniciální stabilizace. Selhání CPAP bylo definováno kyslíkovými nároky nad 30 % u pacientů porozených ≤ 26. týden gestace, případně kyslíkovými nároky nad 40 % u pacientů porozených >26. týden gestace³¹. Poractant alfa (Curosurf®, Chiesi Farmaceutici, Itálie) 200 mg/kg/dose (2.5 ml/kg) byl preparát použitý ve všech případech terapie surfaktantem.

3.6 Statistická analýza

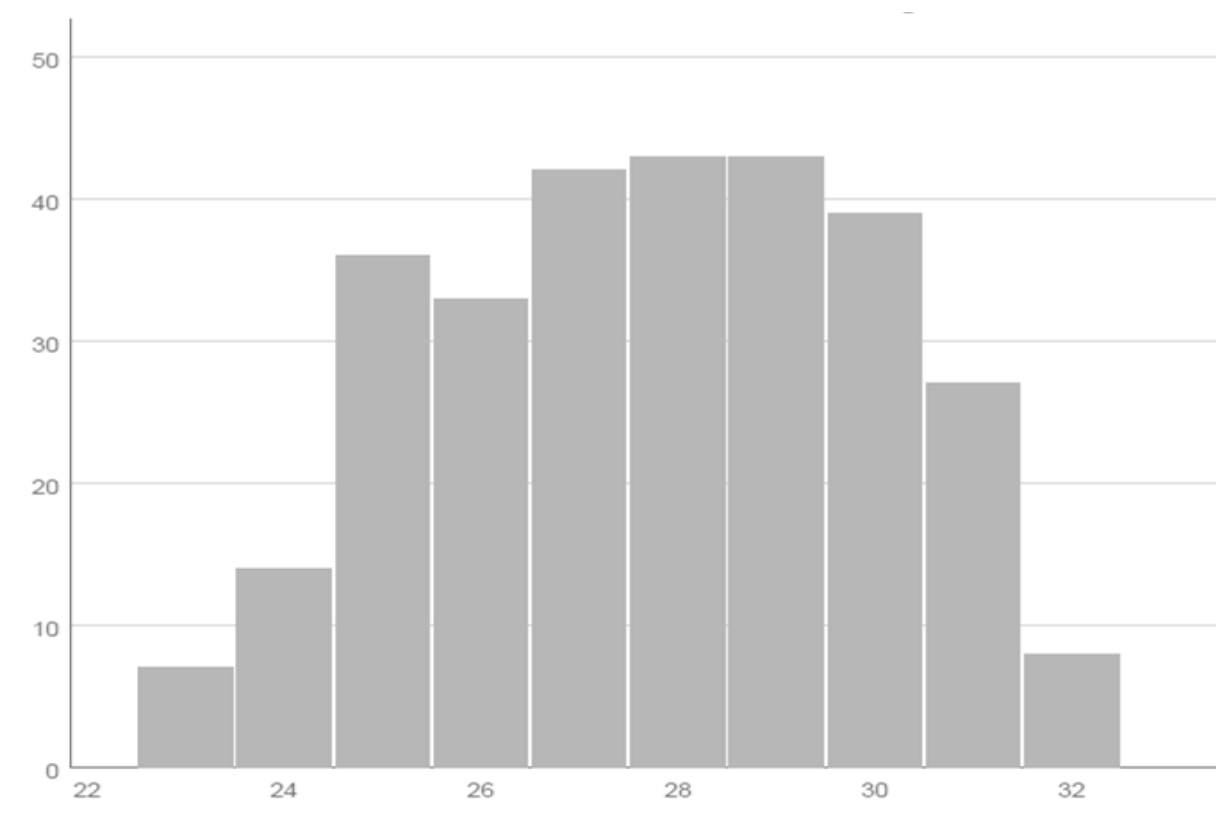
Analýza dat byla provedena pomocí softwaru IBM SPSS Statistics 23.0.0.0 (IBM Corp., Armonk, NY). Demografické údaje a klinické charakteristiky pacientů jsou prezentovány jako mediány a interkvartilové rozpětí, nebo jako průměr a standardní odchylky pro spojité proměnné a pro kategorické proměnné jako počty a procenta. K porovnání negaussovsky distribuovaných proměnných byly použity Chí-kvadrát, Mann-Whitney a Kruskal-Wallis testy. P-hodnoty <0,05 byly považovány za statisticky významné. K predikci rozvoje CLD byly konstruovány binární modely logistické regrese („*stepwise forward*“). Následovala analýza *receiver operating characteristic* (ROC) křivek a plochy pod křivkami (AUC) s identifikací optimálních mezních hodnot.

4. Výsledky

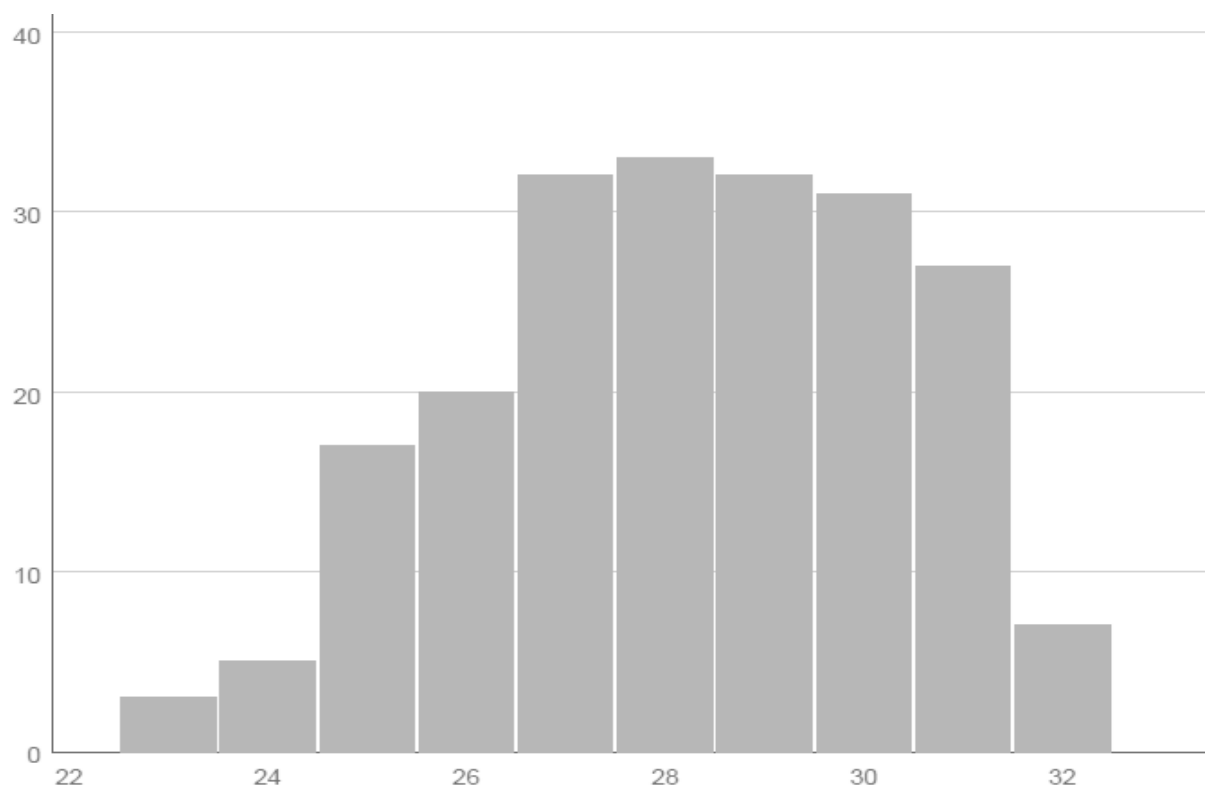
4.1 Popisná statistika a porovnání skupin

Ze 669 novorozenců vhodných k zařazení do studie bylo 342 vyloučeno pro chybějící klinické informace nebo laboratorní hodnoty. Dvanáct vyřazených pacientů splnilo definici střední nebo těžké formy CLD. 45 vyřazených pacientů splnilo definici mírné formy BPD/CLD. Třicet devět pacientů bylo vyřazeno pro úmrtí do 28.dne po narození. Ze zbývajících 288 pacientů 84 splnilo konsenzuální definici střední a těžké formy BPD/CLD. 204 pacientů tuto definici nespnilo, včetně 74 pacientů s mírnou formou. Demografická data studované populace a rozdíly v proměnných mezi pacienty s CLD a ostatními jsou prezentovány v následujících grafech (**Graf 1-15**).

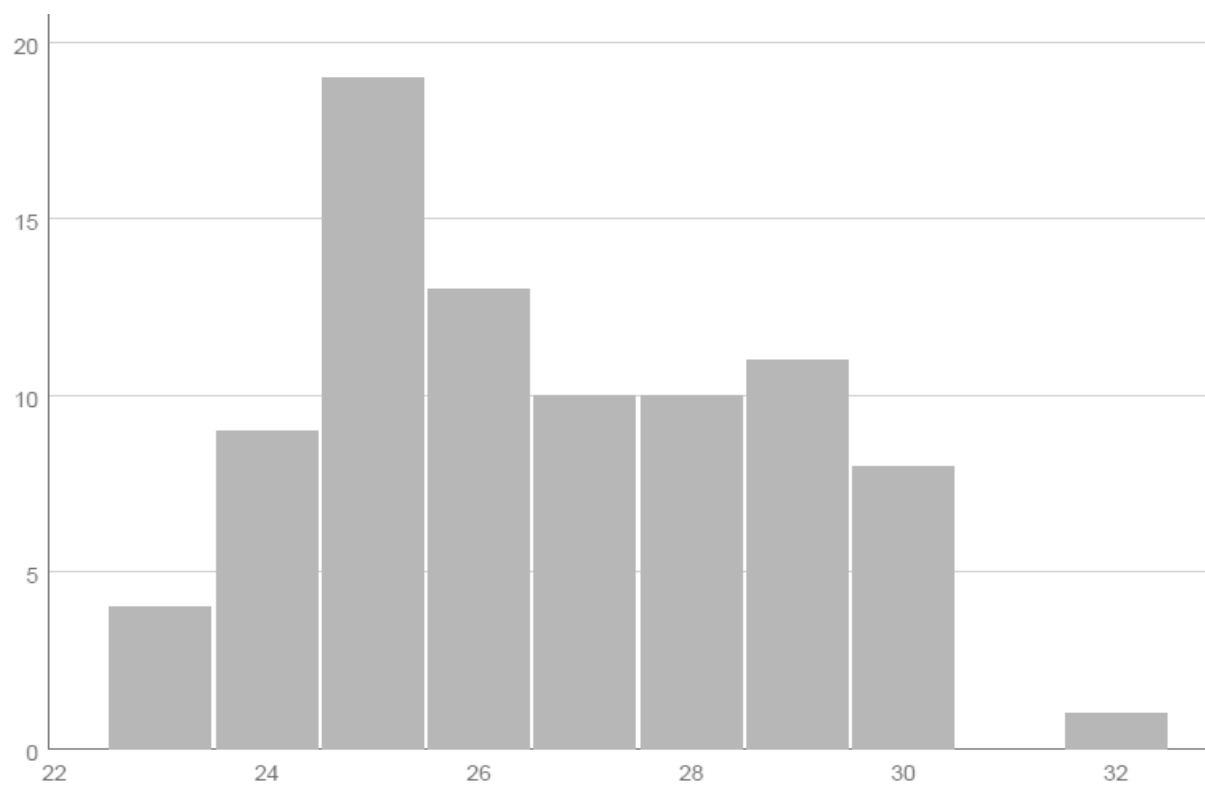
Graf 1 Distribuce a četnost gestačního stáří (v týdnech) ve studované populaci.



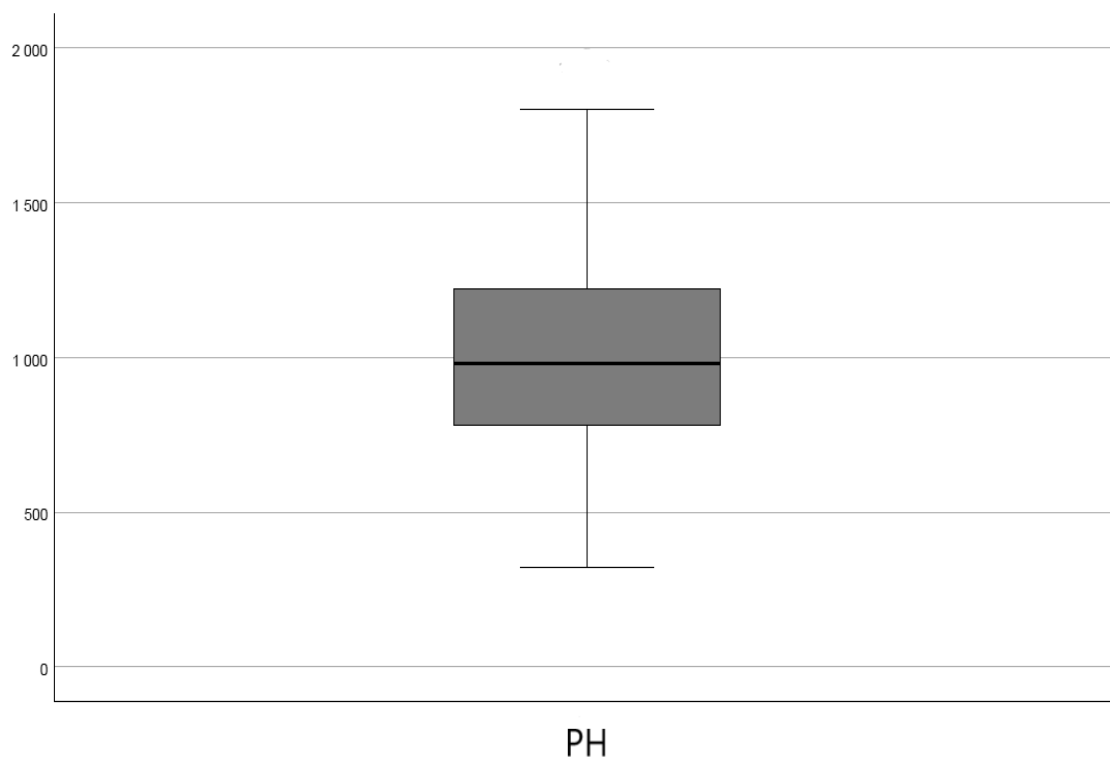
Graf 2 Distribuce a četnost gestačního stáří ve skupině pacientů bez CLD.



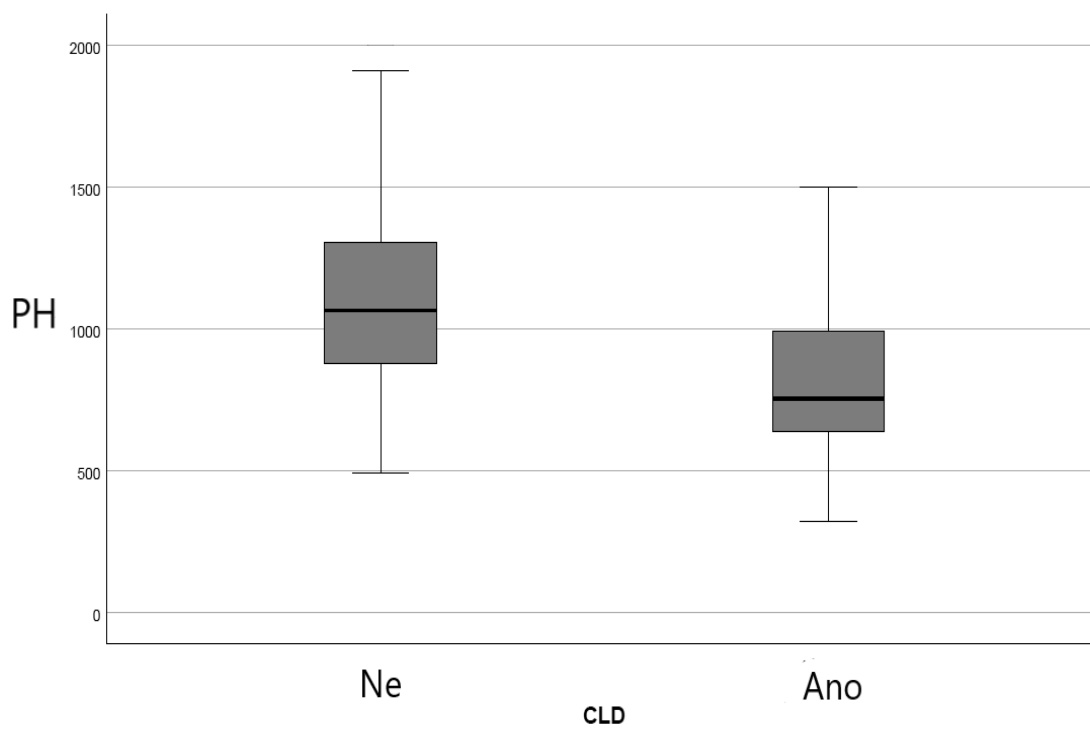
Graf 3 Distribuce a četnost gestačního stáří ve skupině pacientů s CLD



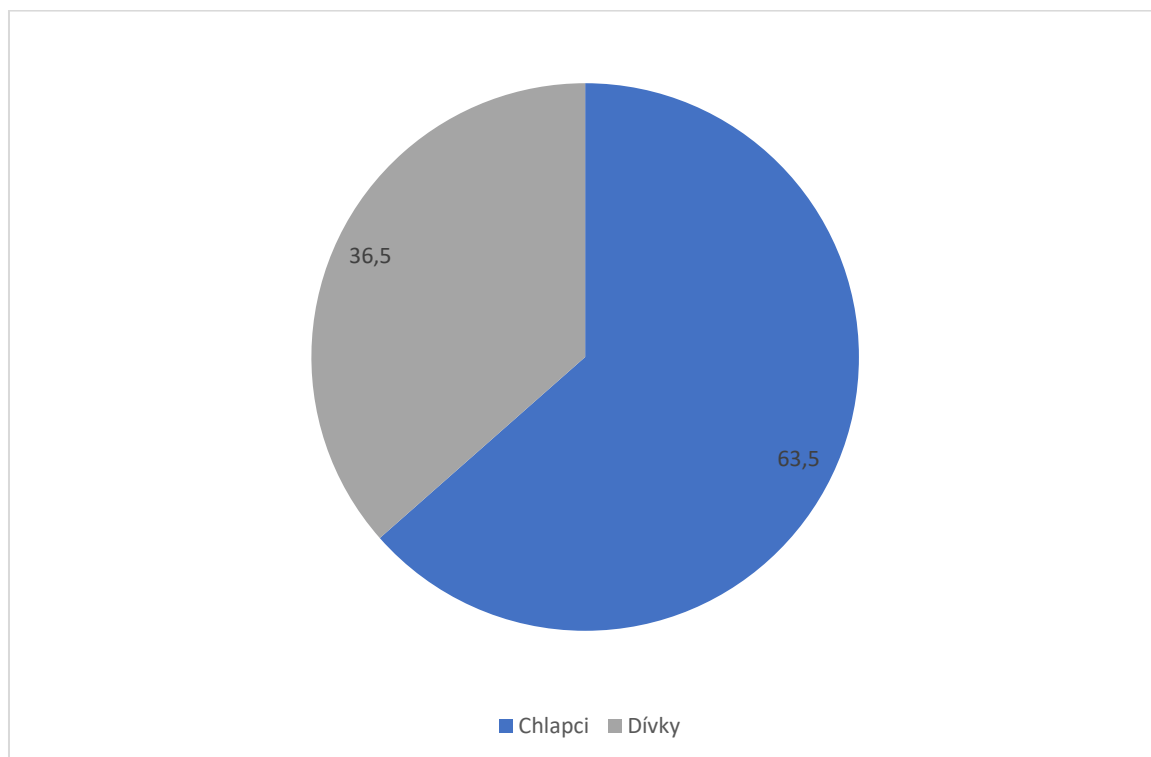
Graf 4 Box plot distribuce porodní hmotnosti (PH, v gramech) ve studované populaci.



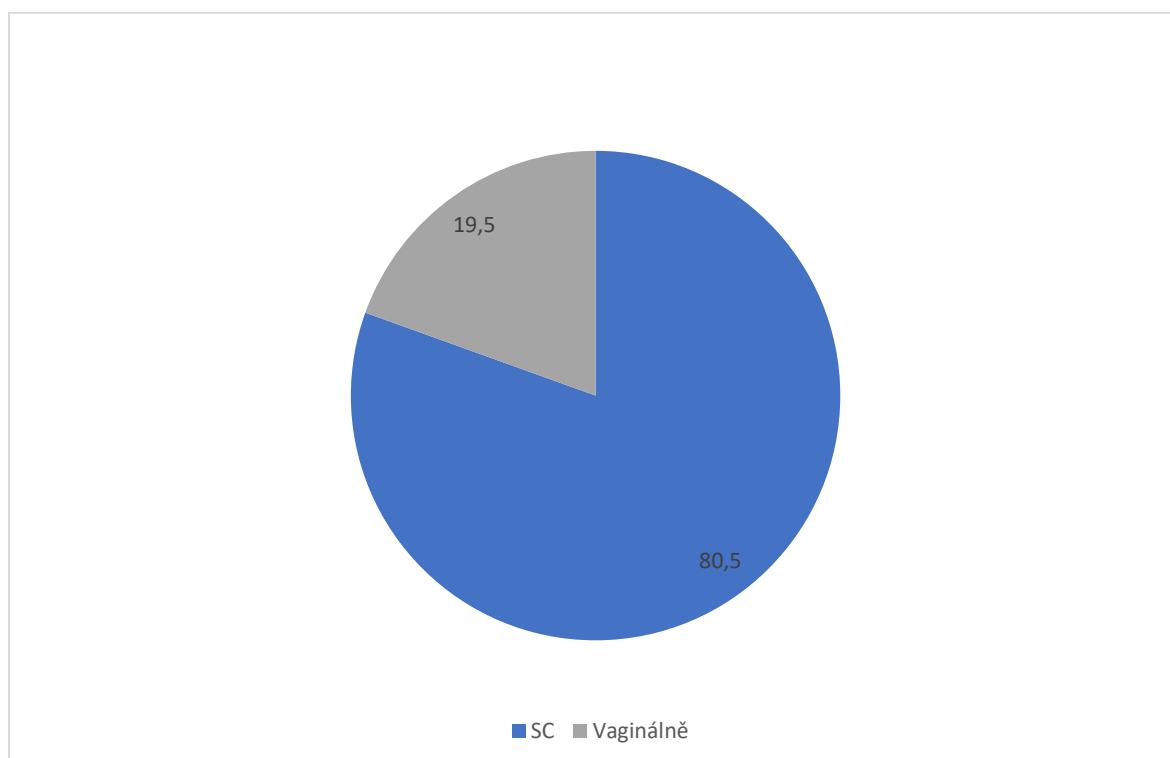
Graf 5 Box plot rozdělení porodní hmotnosti dle CLD



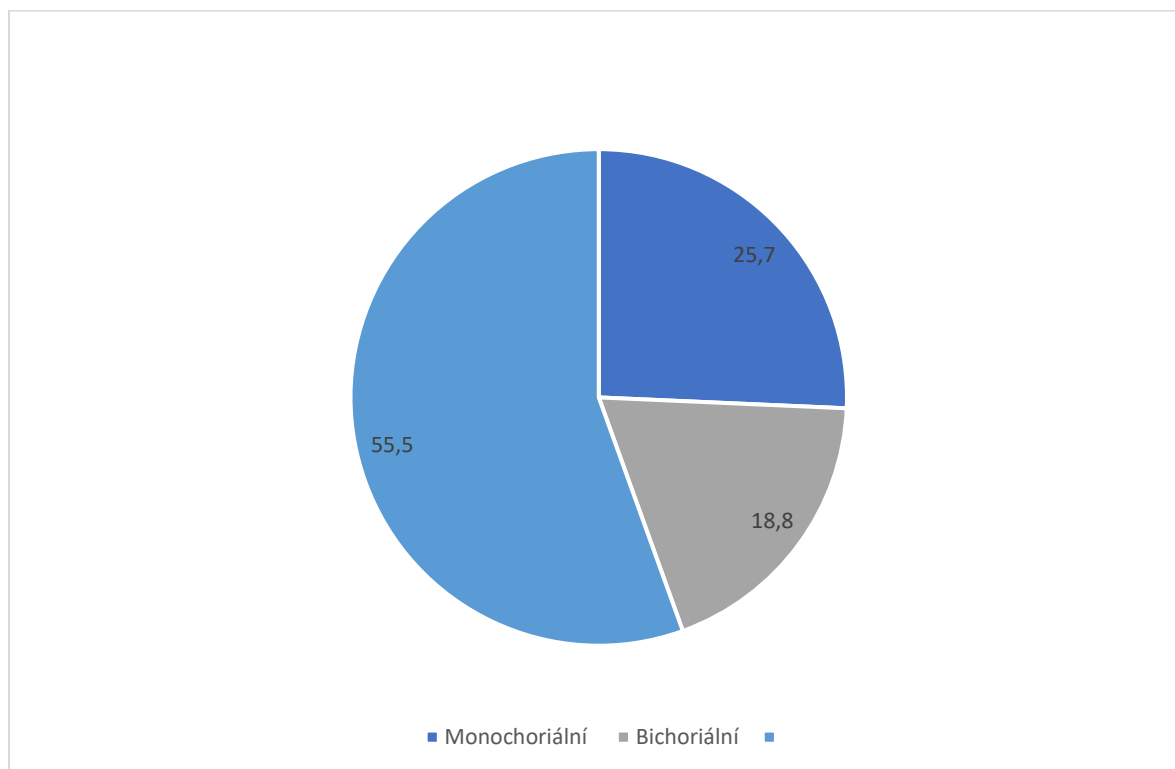
Graf 6 Koláčový graf rozdělení pohlaví ve studované populaci (%).



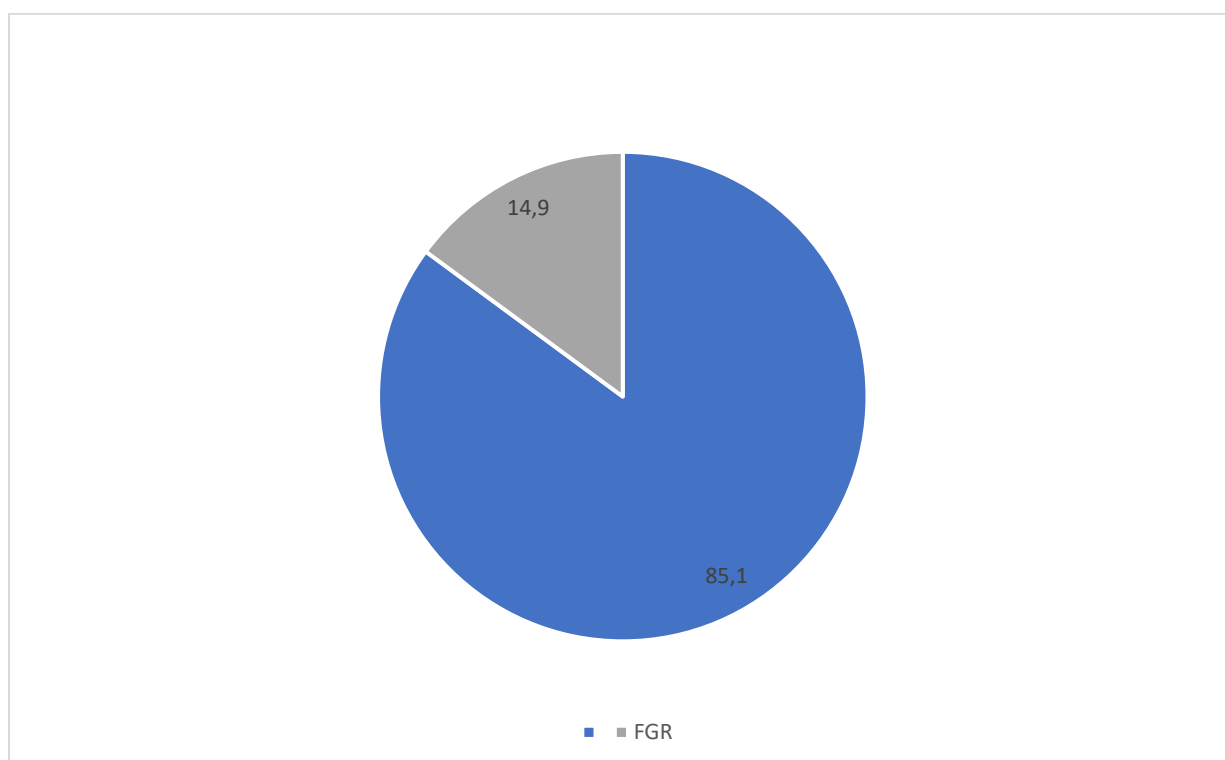
Graf 7 Způsob porodu ve studované populaci (%; SC = *sectio caesarea*).



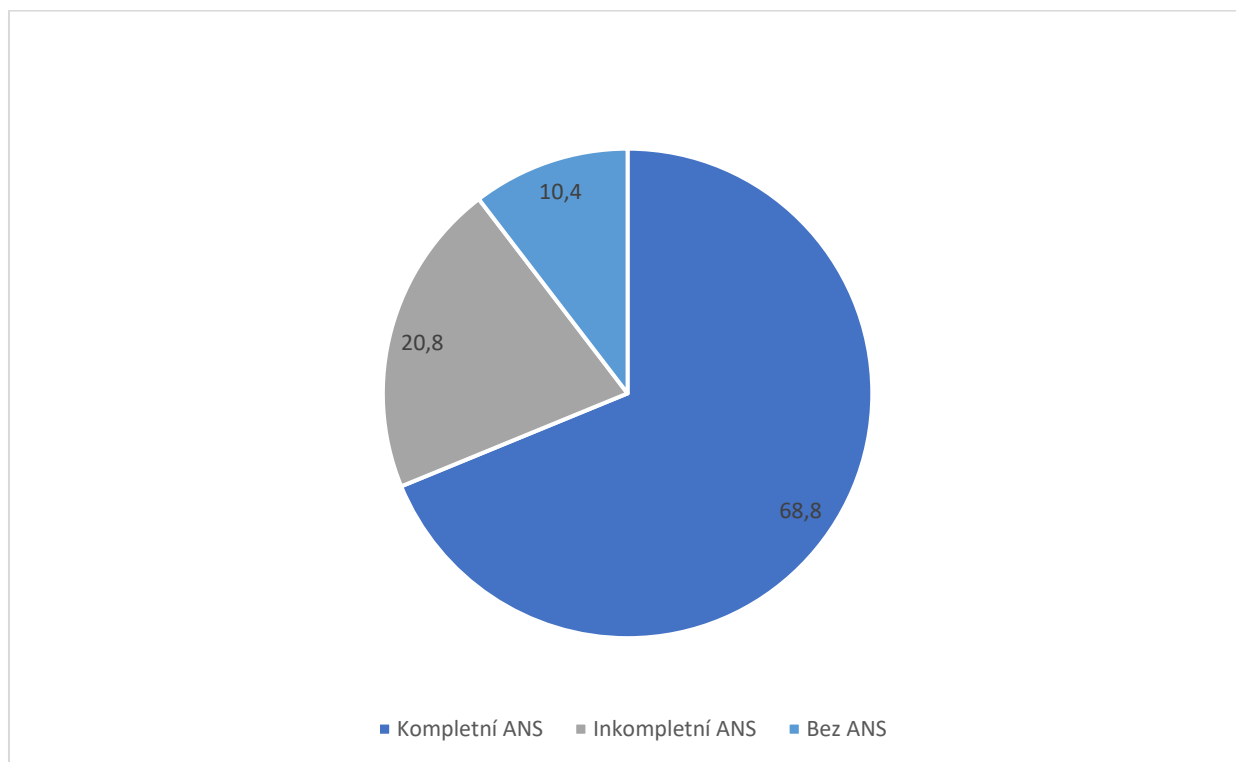
Graf 8 Zastoupení dvojčat ve sledované populaci (%).



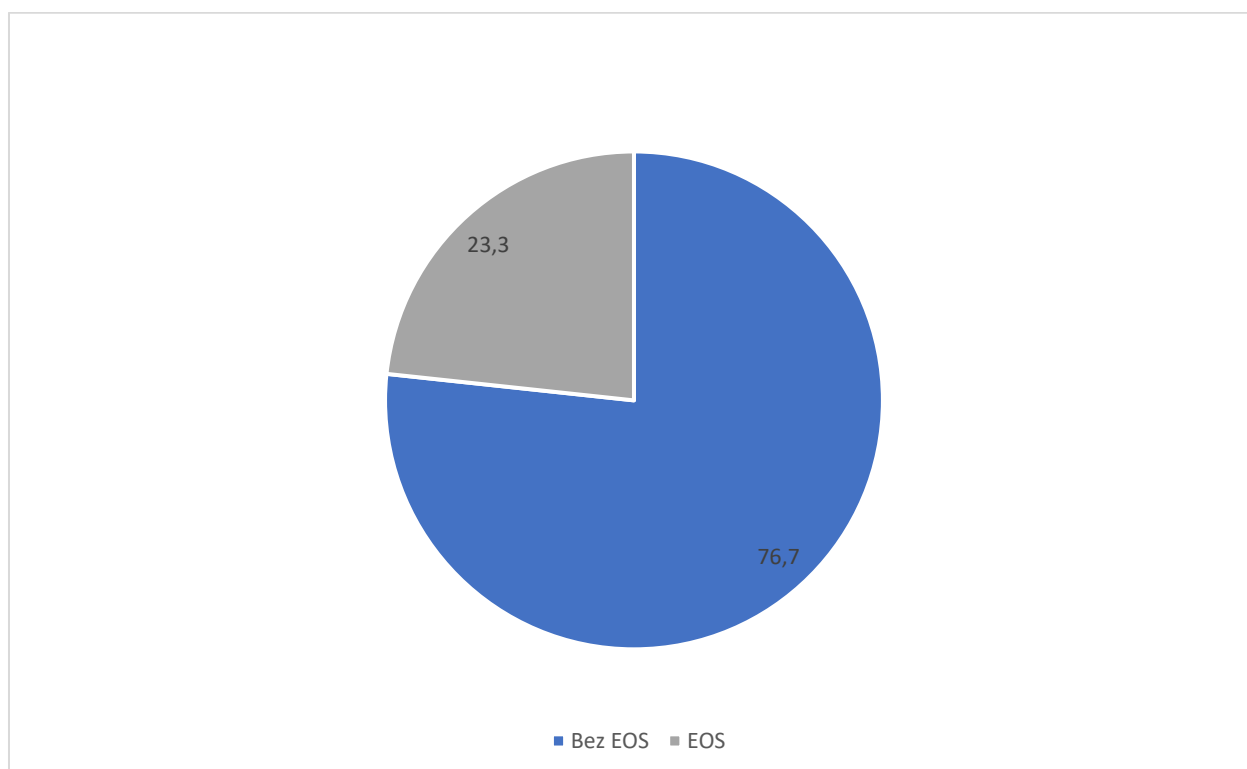
Graf 9 Zastoupení fetální růstové restrikce (%).



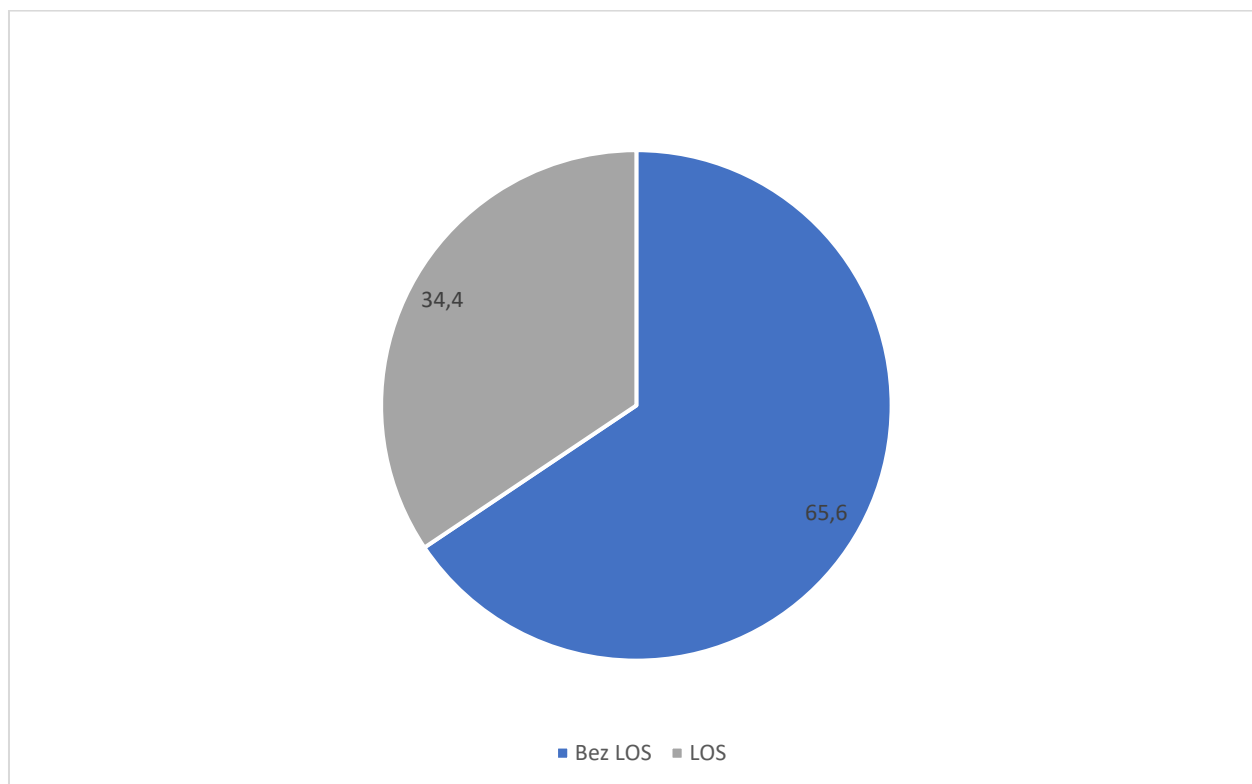
Graf 10 Antenatální steroidní kúra (ANS) ve sledované populaci (%).



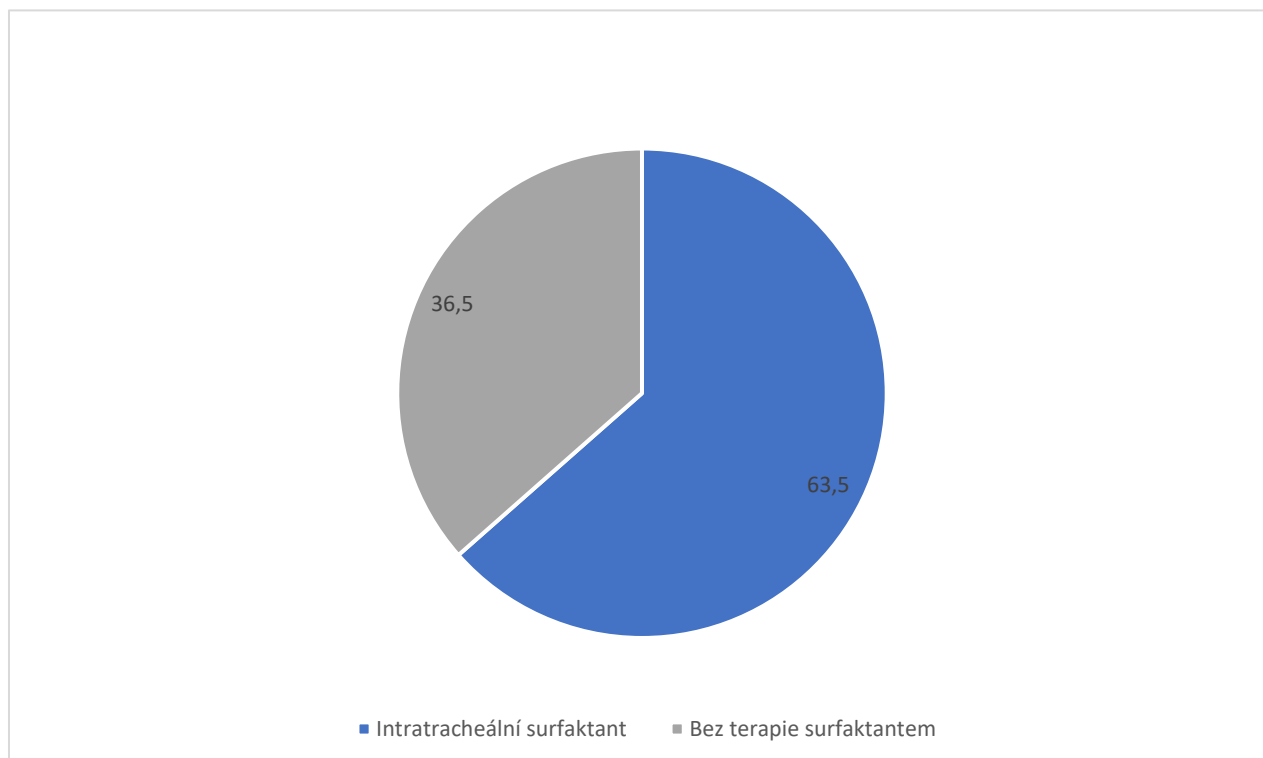
Graf 11 Časná sepse (EOS) ve sledované populaci (%).



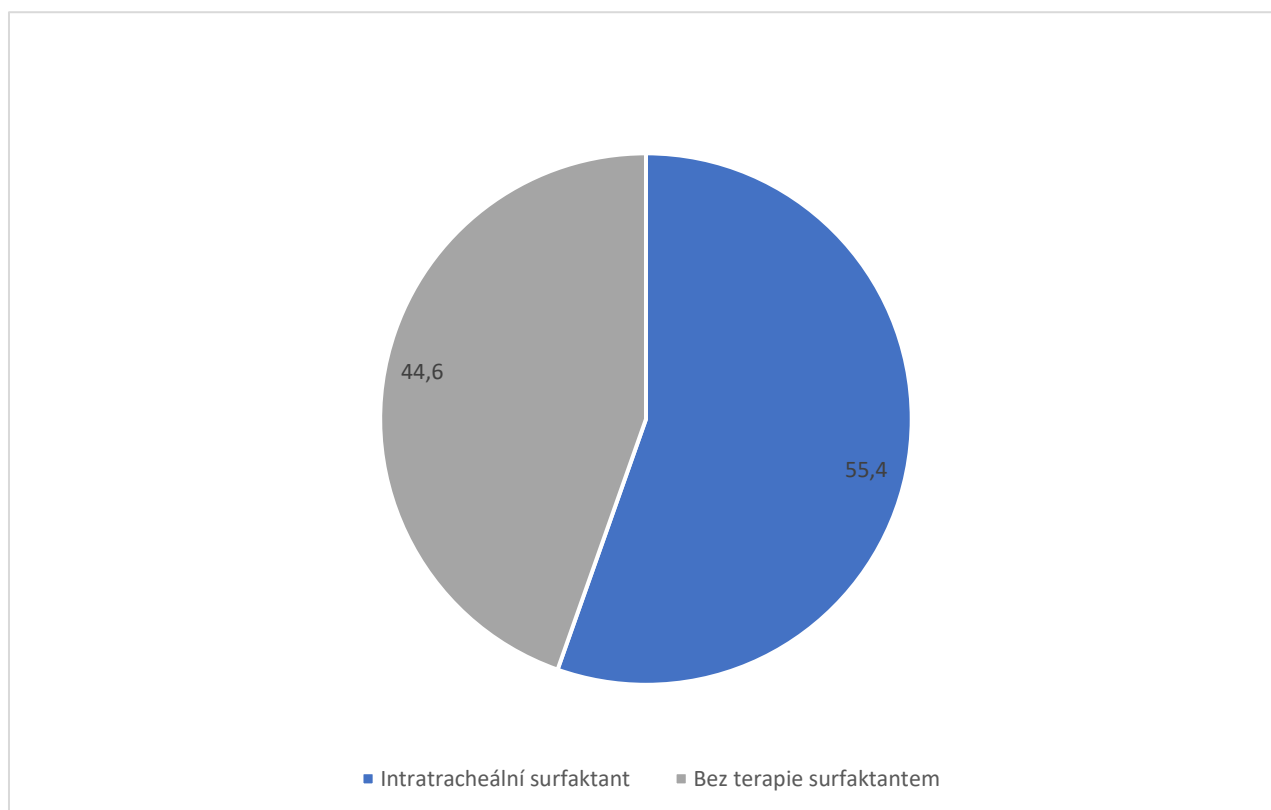
Graf 12 Pozdní sepse (LOS) ve sledované populaci (%).



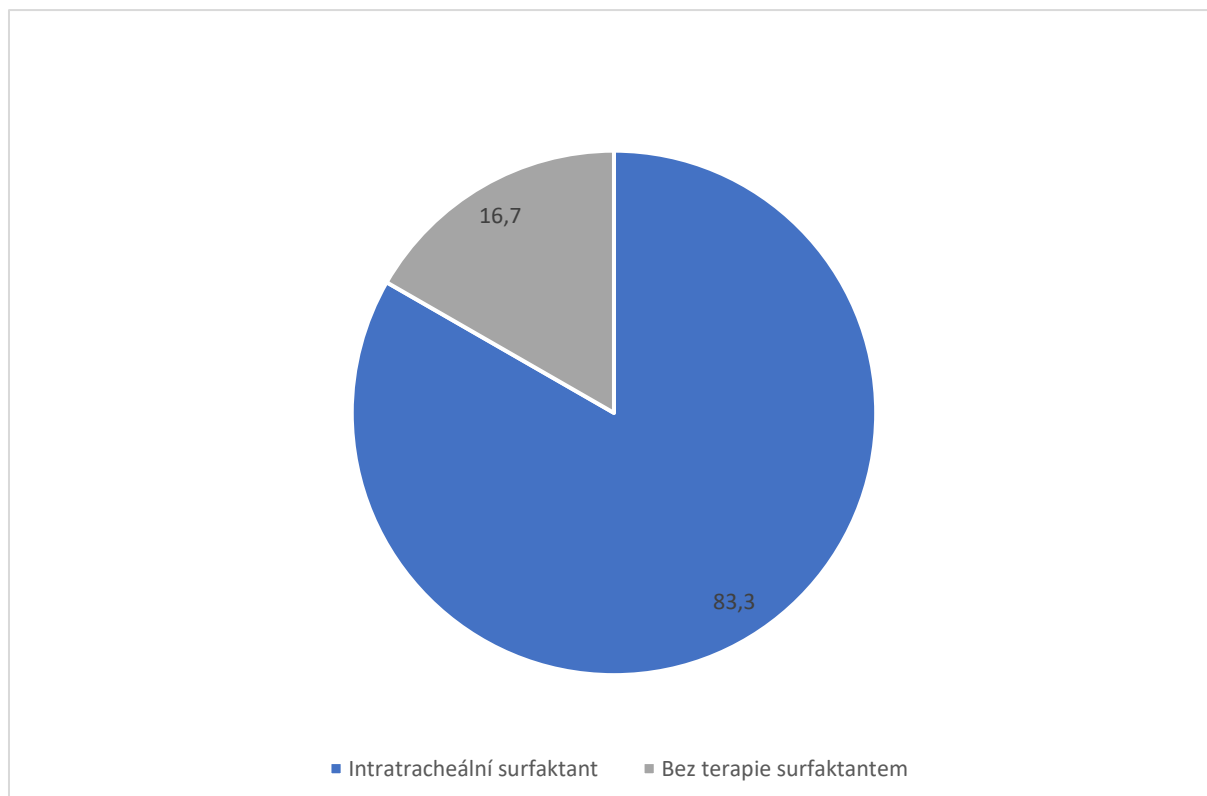
Graf 13 Terapie intratracheálním exogenním surfaktantem ve sledované populaci (%).



Graf 14 Terapie intratracheálním exogenním surfaktantem u pacientů bez CLD (%).



Graf 15 Terapie intratracheálním exogenním surfaktantem u pacientů s CLD (%).



Celkový přehled demografických charakteristik, některých neonatálních morbidit a terapeutických intervencí u studované populace je shrnut v **Tabulce 3**.

Tab.3. Přehled demografických charakteristik, některých neonatálních morbidit a terapeutických intervencí u studované populace. Spojité proměnné jsou vyjádřeny jako medián a interkvartilové rozpětí (IQR), kategorické proměnné jako počet a procento. SC = *sectio caesarea*, ANS = antenatální steroidy, EOS (*Early Onset Sepsis*) = časná sepse, LOS (*Late Onset Sepsis*) = pozdní sepse, RDS (*Respiratory Distress Syndrome*) = syndrom dechové tísně novorozenců, PDA = perszituující *ductus arteriosus*, PIVH = peri/intraventrikulární krvácení, IPE = intraparenchymální echogenita, NEC = nekrotizující enterokolitis, ROP = retinopatie z nezralosti, PVL = periventrikulární leukomalacie.

Proměnná	Studovaná populace N = 288
Gestační věk v týdnech, medián (IQR)	28 (26-30)
Porodní hmotnost v gramech, medián (IQR)	980 (780-1225)
Pohlaví (chlapci), počet (%)	183 (63,5)
Porod SC, počet (%)	232 (80,5)
Monochoriální dvojčata	74 (25,7)
Bichoriální dvojčata, počet (%)	54 (18,8)
Fetální růstová restrikce, počet (%)	43 (14,9)
ANS	
Kompletní	198 (68,8)
Inkompletní	60 (20,8)
Žádné, počet (%)	30 (10,4)

Bezprostřední podvaz pupečníku	87 (30,2)
Oddálený podvaz pupečníku	108 (37,5)
Milking, počet (%)	93 (32,3)
Těžká porucha adaptace, počet (%)	79 (27,4)
EOS, počet (%)	67 (23,3)
LOS, počet (%)	99 (34,4)
Pneumonie, Počet (%)	12 (4,2)
Terapie surfaktantem, počet (%)	183 (63,5)
RDS, Počet (%)	279 (96,9)
Inhalační terapie oxidem dusnatým, počet (%)	16 (5,6)
Umělá plicní ventilace, dny	2 (0-9)
Hypotenze, počet (%)	96 (33,3)
Uzávěr PDA do 21.dne, počet (%)	176 (61,1)
Uzávěr PDA mezi 21.dnem a propuštěním, počet (%)	87 (30,2)
PDA-terapie, počet (%)	43 (14,9)
O ₂ nebo ventilační podpora 28. den, počet (%)	158 (54,9)
PIVH I.st., počet (%)	32 (11,1)

PIVH II.st., počet (%)	9 (3,1)
PIVH III.st., počet (%)	4 (1,4)
PIVH IV.st. (IPE), počet (%)	17 (5,9)
PN, dny	11 (8-16)
NEC, počet (%)	20 (6,9)
ROP, počet (%)	88 (30,6)
Terapie ROP, počet (%)	41 (14,2)
PVL, počet (%)	15 (5,2)

Srovnání demografických charakteristik, některých neonatálních morbidit a terapeutických intervencí u pacientů se střední a těžkou formou CLD a ostatních je shrnut v **Tabulce 4**.

Tab.4. Srovnání demografických charakteristik a vybraných proměnných u pacientů s CLD a pacientů bez CLD. Spojité proměnné jsou vyjádřeny jako medián a interkvartilové rozpětí (IQR), kategorické proměnné jako počet a procento. K porovnání nenormálně distribuovaných proměnných byly použity Chí-kvadrát, Mann-Whitney a Kruskal-Wallis testy. SC = *sectrio caesarea*, ANS = antenatální steroidy, EOS = časná sepse, LOS = pozdní sepse, PDA = perszistující *ductus arteriosus*, PIVH = peri/intraventrikulární krvácení, PN = parenterální nutrice, NEC = nekrotizující enterokolitis, ROP = retinopatie z nezralosti, PVL = periventrikulární leukomalacie.

Charakteristika	CLD N = 84	Pacienti bez CLD N = 204	p-hodnota
Gestační věk v týdnech, medián (IQR)	26 (25-28)	28 (27-30)	<0.001

Porodní hmotnost v gramech, medián (IQR)	755 (640-990)	1065 (877-1305)	<0.001
Pohlaví (chlapci), počet (%)	51 (60,7)	131 (63)	0,596
Porod-SC, počet (%)	70 (83,3)	162 (79,4)	0,516
Monochoriální dvojčata, počet (%)	32 (38,1)	42 (20,6)	0,005
Fetální růstová restrikce, počet (%)	20 (23,8)	23 (11,3)	0,010
ANS Kompletní Inkompletní Žádné, počet (%)	63 (75) 14 (16,7) 7 (8,3)	135 (66,2) 46 (22,5) 23 (11,3)	0,201
Bezprostřední podvaz pupečníku Oddálený podvaz pupečníku Milking, počet (%)	33 (39,3) 20 (23,8) 31 (36,9)	54 (26,5) 88 (43,1) 62 (30,4)	0,007
Těžká porucha adaptace, počet (%)	36 (42,9)	43 (21,1)	<0.001

EOS, počet (%)	32 (38,1)	35 (17,2)	<0.001
LOS, počet (%)	36 (42,9)	63 (30,9)	0,004
Pneumonie, Počet (%)	10 (11,9)	2 (1)	<0.001
Terapie surfaktantem, počet (%)	70 (83,3)	113 (55,4)	<0.001
RDS, počet (%)	84 (100)	195 (95,6)	0,063
Inhalační terapie oxidem dusnatým, počet (%)	13 (15,5)	3 (1,5)	<0.001
Umělá plicní Ventilace ve dnech, medián (IQR)	12 (3-29)	1 (0-3)	<0.001
Hypotenze, počet (%)	48 (57,1)	48 (23,5)	<0.001
Uzávěr PDA do 21.dne, počet (%)	40 (47,6)	136 (66,7)	0,001
Uzávěr PDA mezi 21.dnem a propuštěním, počet (%)	39 (46,4)	48 (23,5)	0,001
PDA-terapie, počet (%)	23 (27,4)	20 (9,8)	<0.001

O ₂ nebo ventilační podpora 28. den, počet (%)	84 (100)	74 (36,3)	<0.001
PIVH I.st., počet (%)	17 (20,2)	15 (7,4)	0,002
PN ve dnech, medián (IQR)	16 (11-25)	10 (7-14)	<0.001
NEC, počet (%)	11 (13,1)	9 (4,4)	0,019
ROP, počet (%)	49 (58,3)	39 (19,1)	<0.001
Terapie ROP, počet (%)	29 (34,5)	12 (5,9)	<0.001
PVL, počet (%)	4 (4,8)	11 (5,4)	0,837

4.2 Časná a pozdní systémová zánětová odpověď

Hodnoty IL-6 v séru u pacientů s CLD během prvních dvou hodin po narození se statisticky významně nelišili od hodnot pacientů bez CLD, přestože u nich byl mírný trend k vyšším hodnotám (medián 116,6 ng/l, IQR 55,9 - 209,1 vs. medián 83,1 ng/l, IQR 37,6 - 186,7, p-hodnota 0,106). Časná vrcholová hodnota IL-6 v séru u pacientů s CLD byla statisticky významně vyšší oproti pacientům bez CLD (medián 189,3 ng/l, IQR 80,8 - 663,7 vs. medián 100,8 ng/l, IQR 43 - 279,8, p-hodnota 0,001).

67 pacientů ve sledované populaci splnilo kritéria časně infekce (viz. Tab. 3). Procentuální zastoupení časných infekcí bylo ve skupině pacientů s CLD významně vyšší ve srovnání s pacienty bez CLD (viz. Tab. 4). Pouze tři pacienti s časnou sepsí měli pozitivní hemokulturu, ostatní splnili klinická a laboratorní kritéria. Všichni pacienti s pozitivní hemokulturou byli ze skupiny bez CLD.

Pozdní vrcholová hodnota IL-6 v séru u pacientů s CLD byla statisticky významně vyšší oproti pacientům bez CLD (medián 74,3 ng/l, IQR 18,4-428,6 vs. medián 21,5 ng/l, IQR 8,3-233,8, p-hodnota 0,002).

99 pacientů ve sledované populaci splnilo kritéria pozdní infekce (viz. Tab. 3). Procentuální zastoupení pozdních infekcí bylo ve skupině pacientů s CLD významně vyšší ve srovnání s pacienty bez CLD (viz. Tab. 4). Padesát šest pacientů mělo pozitivní hemokulturu, 42 pacientů splnilo klinická a laboratorní kritéria (klinická sepse) a jeden měl sepsi virové etiologie (HSV-2). Zastoupení prokázaných a klinických sepsí se ve skupině pacientů s CLD a bez významně lišilo (p-hodnota 0,004). Ve skupině pacientů s CLD mělo 22 (25,9 %) klinickou sepsi a 14 (16,5 %) mikrobiologicky prokázanou. Ve skupině pacientů bez CLD mělo 20 (9,6 %) klinickou sepsi a 42 (20,2 %) sepsi prokázanou. Pacient s pozdní systémovou virovou infekcí byl ze skupiny bez CLD.

4.3 Dynamika časně systémové zánětové odpovědi

Ve skupině pacientů s CLD i ve skupině pacientů bez CLD byl zřejmý trend k vzestupu sérových hladin IL-6 mezi obdobími do dvou hodin po narození a 12-24 hodin po narození (průměrný rozdíl 390,7 ng/l, 135,2 - 646,2 95 % CI vs. průměr 107,5 ng/l, 34,6 - 180,4 95 % CI). Rozdílná dynamika mezi skupinami byla statisticky významná (p-hodnota 0,015). Kategorizovaná umělá plicní ventilace byla další proměnnou se statisticky významným rozdílem (p-hodnota 0,004) v dynamice IL-6 mezi pacienty s UPV a bez (průměr 257,3 ng/l, 129,3 - 385,2 95 % CI vs. průměr 58,9 ng/l, -37 - 154,9 95 % CI). Nejprudší dynamika časně systémové zánětlivé odpovědi byla zaznamenána u pacientů s nekonvenční umělou plicní ventilací, konkrétně vysokofrekvenční oscilační ventilací (průměrný rozdíl 674,4 ng/l, 121,3 - 1228,2 95 % CI), u pacientů s časnou sepsí (průměr 663,2 ng/l, 310,1 - 1016,4 95 % CI) a u pacientů s hypotenzí (průměr 509,1 ng/l, 245,9 - 773,8 95 % CI). Terapie RDS surfaktantem vedla ke statisticky významnému rozdílu (p-hodnota 0,024) oproti pacientům bez nutnosti této terapie pouze v případě invazivního podání (průměrný rozdíl 14,8 ng/l, 2,5 - 27,1 95 % CI vs. průměr 320,3 ng/l, 157,5 - 483,1 95 % CI). Ostatní proměnné včetně fetální růstové restrikce, dvojčetné gravidity, antenatální steroidní kůry, nebo těžké poruchy adaptace neměli statisticky významný vliv na dynamiku časně systémové zánětlivé odpovědi. Při porovnání difference u UPV, včetně nekonvenční, časně sepse, hypotenze a terapie surfaktantem mezi skupinami rozdělenými podle CLD nebyl detekován statisticky významný rozdíl.

4.4 Logistická regrese

Pro detekci faktorů a prediktorů CLD, tedy kategorické závislé proměnné, byly vytvořeny tři modely binární logistické regrese. Proměnné s významným rozdílem mezi skupinami jsou patrné z Tab. 4. Do prvního modelu byly zahrnuty dva prediktory, časná a pozdní vrcholová hodnota IL-6. První model je v **Tabulce 5**. Pozdní vrcholová hodnota IL-6 po zařazení do modelu ztratila statistickou významnost (hladina významnosti $\alpha = 0,273$). Hodnoty koeficientů determinace prvního modelu byly nízké (Coxové-Snellův koeficient determinace: 0,014, Nagelkerkův koeficient determinace: 0,021). Hosmerův-Lemeshowův test nicméně vedl k zamítnutí nulové hypotézy u prvního modelu. **Tabulka 6** je klasifikační tabulkou prvního modelu logistické regrese.

Tab. 5. První model logistické regrese.

Charakteristika	Exp(B)	95 % CI pro Exp(B)		p-hodnota
		dolní limit	horní limit	
Časná vrcholová hodnota IL-6	1,00	1,00	1,00	0,040

Tab. 6. Klasifikační tabulka binárního logistického regresního modelu predikce CLD podle časných vrcholových hodnot IL-6 v séru.

Pozorování		Predikce		
		CLD		Procenta korektní predikce
		Ne	Ano	
CLD	Ne	200	5	97,1
	Ano	76	7	8,2
Celková procenta				71,2

Druhý model binární logistické regrese primárně zahrnoval faktory a prediktory s hladinou významnosti $\alpha < 0,05$, známé ve věku 24 hodin po narození. Postupnou regresí došlo k vyřazení většiny proměnných včetně těžké poruchy adaptace, bezprostředního podvazu pupečníku, časné sepse a časné vrcholové hodnoty IL-6. Gestační věk a porodní hmotnost byly v regresních modelech, jako silně provázané proměnné, téměř zaměnitelné, ale při zařazení gestačního stáří byly vlastnosti modelu lepší. Součástí modelu tak zůstalo gestačního stáří, monochorionicitu

při vícečetném těhotenství a fetální růstová restrikce. Přehled druhého modelu je v **Tabulce 7**. Hodnoty koeficientů determinace byly vyšší oproti prvnímu modelu (Coxové-Snellův koeficient determinace: 0,188, Nagelkerkův koeficient determinace: 0,269). Hosmerův-Lemeshowův test u druhého modelu zamítl nulovou hypotézu. **Tabulka 8** je klasifikační tabulkou druhého modelu logistické regrese.

Tab. 7. Přehled výsledného druhého modelu logistické regrese.

Charakteristika	Exp(B)	95 % CI pro Exp(B)		p-hodnota
		dolní limit	horní limit	
Gestační věk	0,633	0,547	0,732	<0,001
Monochorionicita	2,596	1,347	5,004	0,004
Fetální růstová restrikce	4,275	1,914	9,546	<0,001

Tab. 8. Klasifikační tabulka binárního logistického regresního modelu predikce CLD podle gestačního stáří, monochorionicity při vícečetném těhotenství a fetální růstové restrikce.

Pozorování		Predikce		
		CLD		Procenta korektní predikce
		Ne	Ano	
CLD	Ne	184	21	89,4
	Ano	49	34	41,2
Celková procenta				75,3

Třetí model binární logistické regrese primárně zahrnoval faktory a prediktory s hladinou významnosti $\alpha < 0,05$, známé ve věku 14 dnů po narození. Postupnou regresí došlo k vyřazení většiny proměnných včetně terapie surfaktantem, inhalační terapie oxidem dusnatým, hypotenze a časné sepse. Součástí modelu zůstala pro lepší vlastnosti porodní hmotnost, umělá plicní ventilace ve dnech a parenterální výživa ve dnech. Umělá plicní ventilace a parenterální výživa byly kategorizovány podle optimálních dělicích bodů s ohledem na CLD. Pro umělou plicní ventilaci byl dělicí bod 5 dnů (58 pacientů s CLD a 45 bez bylo ventilována více než 5 dnů, 27 pacientů s CLD a 163 bez bylo ventilováno 5 dnů a méně). Pro parenterální výživu byl dělicí bod 13 dnů (62 pacientů s CLD a 60 bez mělo PN více než 13 dnů, 23 pacientů s CLD a

148 bez mělo PN 13 dnů a méně). Přehled třetího modelu je v **Tabulce 9**. Hodnoty koeficientů determinace byly nejvyšší ze všech modelů, ale poměrně nízké (Coxové-Snellův koeficient determinace: 0,252, Nagelkerkův koeficient determinace: 0,361). Hosmerův-Lemeshowův test u třetího modelu zamítl nulovou hypotézu. **Tabulka 10** je klasifikační tabulkou třetího modelu logistické regrese.

Tab. 9. Přehled výsledného třetího modelu logistické regrese.

Charakteristika	Exp(B)	95 % CI pro Exp(B)		p-hodnota
		dolní limit	horní limit	
Porodní hmotnost	0,998	0,996	0,999	<0,001
UPV	3,562	1,843	6,885	<0,001
PN	2,246	1,137	4,437	<0,001

Tab. 10. Klasifikační tabulka binárního logistického regresního modelu predikce CLD ve věku 14 dnů po narození podle porodní hmotnosti, délky UPV a délky PN.

Pozorování		Predikce		
		CLD		Procenta korektní predikce
		Ne	Ano	
CLD	Ne	180	25	87,9
	Ano	39	44	53,0
Celková procenta				77,9

4.5 ROC křivky a mezní hodnoty

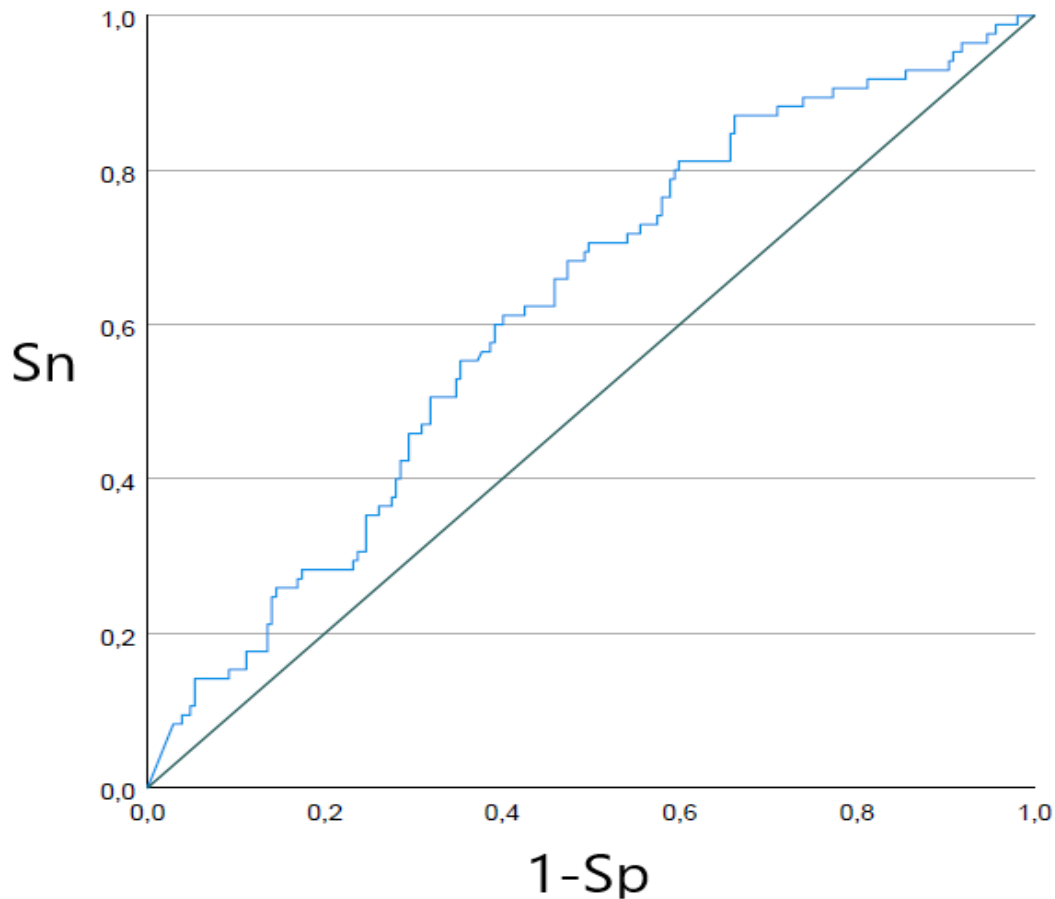
ROC křivky pro diagnostiku CLD pomocí sérových hladin IL-6 byli konstruovány jako standardní nástroj pro vizualizaci výstupu testů. ROC křivka pro časnou vrcholovou hodnotu (**Obr. 10**) IL-6 měla plochu pod křivkou (AUC) 0,62 (0,55 - 0,69 95 % CI). Prediktivní hodnota testu byla slabá. ROC křivka pro pozdní vrcholovou hodnotu IL-6 měla AUC <0,55 a predikce CLD nebyla možná.

Vzhledem k vysoké prevalenci CLD ve sledované populaci (29 %) minimalizuje optimální mezní hodnota časně vrcholové hladiny IL-6 především počet falešně negativních pacientů.

Důsledkem je vyšší počet falešně pozitivních pacientů. Hledaná hodnota se tudíž nachází v oblasti pravého horního kvadrantu křivky. Při mezní hodnotě 175 ng/l byla sensitivita 53 %, specificita 65 %, pozitivní prediktivní hodnota 39 % a negativní prediktivní hodnota 77 %. Celková přesnost této mezní hodnoty byla 62 %.

Obr. 10 ROC křivka časné vrcholové hodnoty IL-6 v diagnostice CLD

(Sn = sensitivita, Sp = specificita).



5. Diskuze

Bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců nadále představuje zásadní komplikaci předčasného narození a je silně asociována s řadou dlouhodobých vývojových i respiračních následků⁴⁵. Predikace a časná diagnostika jsou klíčovými podmínkami k testování intervencí s potenciálem snížit přetrvávající vysokou incidenci v tzv. rozvinutých zemích. Incidence nejen v Evropě závisí na použité definici a zahrnuté populaci. Při definici CLD založené pouze na nutnosti oxygenoterapie ve věku 36 týdnů postkoncepčně, u těžce nezralých (≤ 28 .týden těhotenství) je rozmezí incidence v Evropě velmi široké (17-73 %). Je to částečně způsobeno zahrnutím extrémně nezralých porozených pod 24.týden těhotenství a nezahrnutím novorozenců porozených nad 26.týden těhotenství v některých zemích (např. Švédsko), nebo limitací analyzované populace také porodní hmotností v jiných (pod 1500 g, např. Španělsko)⁸⁵. Pro ilustraci incidence CLD u přeživších nezralých porozených pod 24.týden těhotenství je uváděna v rozmezí 73-85 %²⁹. Tato heterogenita recentních zdrojových dat v distribuci gestačního stáří neumožňují vyjádření užšího rozmezí incidence CLD.

Při použití klasické definice BPD/CLD (viz. Tab.1) byla incidence v celé studované populaci této práce 32,1 %. Definice založená na potřebě kyslíku nebo ventilační podpory ve věku 36 týdnů postkoncepčně, zahrnující pouze střední a těžké formy dle klasické definice, znamená incidenci 14,3 % v této skupině pacientů porozených ≤ 32 .týden těhotenství. V analyzované části souboru byla incidence BPD/CLD dle klasické definice 54,5 %, dle definice CLD v této práci 29,2 %. Důvodem je nedostupnost laboratorních dat u pacientů s nižší celkovou morbiditou. Při stratifikaci populace podle gestačního stáří se incidence CLD v analyzované skupině zásadně neliší od rozsáhlých populačních studií. Data NICHD (*Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network*) ze Spojených států uvádějí incidenci CLD 71 % u pacientů porozených po dokončení 24.týdne těhotenství (64 % v analyzovaném souboru), 55 % u pacientů porozených po dokončení 25.týdne těhotenství (50 % v analyzovaném souboru), 43 % u pacientů porozených po dokončení 26.týdne těhotenství (39 % v analyzovaném souboru), 33 % u pacientů porozených po dokončení 27.týdne těhotenství (24 % v analyzovaném souboru) a 23 % u pacientů porozených po dokončení 28.týdne těhotenství (23 % v analyzovaném souboru)²⁹. Analyzovaná kohorta by tudíž měla představovat reprezentativní vzorek velmi nezralých novorozenců stran incidence CLD. Definice CLD použitá v této práci reflektuje aktuální mezinárodní preferenci v populačních studiích, zaměřenou na střední a těžké formy dle definice klasické⁸⁵.

5.1 Charakteristiky studované populace

Mortalita

Mortalita v celé studované populaci byla 5,8 %. Rozsáhlá populační studie zaměřená na morbiditu a mortalitu nezralých novorozenců ≤ 31 . týden těhotenství v 16. Evropských regionech (11 zemí) uvádí mortalitu před propuštěním 13,7 % (rozmezí dle regionů 8,4 - 18,8 %) ⁸⁶. Čínská populační studie hodnotící mortalitu a morbiditu novorozenců porozených mezi 24. a 31. týdnem těhotenství uvádí celkovou mortalitu 8,8 % ⁸⁷. Nižší mortalita ve studované populaci je pravděpodobně způsobena zahrnutím novorozenců porozených po dokončení 32. týdne. Důvodem byla snaha analyzovat maximum pacientů s CLD (viz. Graf 3).

Vícečetné těhotenství

Vícečetné, nejčastěji dvojčetné, těhotenství je významným rizikovým faktorem pro předčasný porod ⁸⁸. V roce 2010 byla v Evropě incidence předčasného porodu pod 32. týden těhotenství 0,7 % u jednočetných gravidit a 8,8 % u gravidit vícečetných ⁸⁹. Díky tomu mají novorozenci z vícečetných gravidit významně vyšší mortalitu, morbiditu a výskyt dlouhodobých vývojových následků ⁸⁹. Četnost vícečetných gravidit se dlouhodobě zvyšuje. Hlavními udávanými důvody jsou zvyšující se věk matek a asistovaná reprodukce. Průměrná incidence dvojčetné gravidity v Evropě je 16,8 porodů na 1000. Česká republika má jednu z nejvyšších incidencí dvojčetné gravidity v Evropě, konkrétně 21 porodů na 1000 ⁸⁹. Ve výše citovaných populačních studiích je zastoupení novorozenců z vícečetné gravidity porozených před 32. týdnem těhotenství přibližně třicetiprocentní ^{86, 87}. Dvojčetná těhotenství s monochoriální komponentou mohou být dále komplikována transfuzními syndromy (10-15 % TTTS-*twin to twin transfusion syndrome*, 5 % TAPS-*twin anemia-polycythemia sequence*), nebo selektivní fetální růstovou restrikcí (12-25 %, sFGR) ⁹⁰. Obecně platí, že monochoriální komponenta vícečetné gravidity zvyšuje riziko prenatální hemodynamické kompromitace s řadou bezprostředních i dlouhodobých následků. Tyto následky je možné pozorovat i v případě absence transfuzních syndromů. Monochoriální/biamniální a monochoriální/monoamniální dvojčata představují v některých centrech až 41 % dvojčetných gravidit, s výraznou převahou dvojčat monochoriálních/biamniálních ⁸⁸. V analyzované kohortě představují dvojčata 44,5 % pacientů. Monochoriální dvojčata reprezentují 57,8 % všech dvojčetných gravidit. Důvodem je kromě vysoké incidence dvojčetných gravidit v České republice obecně i program centralizace rizikových těhotenství v perinatologických centrech a centralizace vícečetných těhotenství

s monochoriální komponentou v centrech poskytujících invazivní prenatální terapeutické modality (např. laserová ablace spojek pro TTTS).

Fetální růstová restrikce

Četnost fetální růstové restrikce (FGR) v populačních studiích je závislá na definici. Převládá porodní hmotnost pod 10.percentil v růstových grafech založených na fetálních růstových křivkách s, nebo bez abnormální prenatální 2D sonografie a dopplerovských měření^{80, 81, 86}. Těžká fetální růstová restrikce je porodní hmotnost pod 3.percentil. Incidence FGR u velmi nezralých novorozenců je vyšší oproti donošeným a je silně asociována s gestačním stářím⁹¹. Celkově v Evropě přesahuje 30 % (20,5 % těžká forma), vrchol četnosti je mezi 28. a 31.týdnem těhotenství (36,2 %), u těžce nezralých je incidence nižší (23,4 %). Abnormální prenatální sonografické vyšetření asociované s FGR mělo 16,2 % velmi nezralých novorozenců z citované evropské kohorty⁹¹. Celková četnost ve studované populaci byla 18 %, v analyzované části 14,9 %. Důvodem může být kromě vazby na prenatální diagnostiku i malá velikost vzorku ve srovnání s mezinárodní populační studií.

Antenatální steroidní terapie

Terapie antenatálními steroidy (ANS) je, vzhledem řadě benefitů pro velmi nezralé novorozence, v Evropě velmi častá (89,2 % u přeživších do propuštění, kompletní + inkompletní ANS) ve srovnání např. s Čínou (56 %) ^{86, 87}. V analyzované části studované populace byla steroidní terapie před předčasným porodem zahájena v 89,6 % případů (68,8 % kompletní, 20,8 % inkompletní), což odpovídá současné celoevropské praxi.

Těžká porucha adaptace

Četnost endotracheální intubace a zahájení UPV v rámci postnatální stabilizace u velmi nezralých novorozenců je velmi odlišná i mezi podobnými evropskými regionálními perinatologickými centry (30 vs. 70 %) ⁹². Celoevropský průměr je přes 40 % ⁸⁶. Incidenci pod 30 % v analyzované části souboru je tak možné považovat za nízkou. Tato hodnota pravděpodobně reflektuje současnou preferenci neinvazivní ventilační podpory v bezprostředním postnatálním období, která je součástí komplexní prevence rozvoje BPD/CLD.

Syndrom dechové tísně novorozenců a terapie surfaktantem

Klinicko-radiologická definice syndromu dechové tísně novorozenců (RDS) dle *Vermont Oxford Network* (VON) je v populačních studiích používána v různých modifikacích často⁸⁴.⁸⁷. Incidence je inverzně závislá na gestačním stáří. U pacientů porozených pod 25.týden těhotenství dosahuje 90-100 %. U těžce nezralých je uváděná incidence 80 %³¹. Některé zdroje místo incidence RDS uvádějí četnost terapie surfaktantem, která reprezentuje lepší ukazatel respirační morbidity velmi nezralých novorozenců v prvních 24.hodinách po narození. V kohortě velmi nezralých pacientů z pevninské Francie přesáhla četnost terapie surfaktantem 65 %⁹³. Zatímco četnost RDS v analyzované části studované populace je velmi vysoká, pravděpodobně v důsledku nízkého klinického prahu k zahájení neinvazivní ventilační podpory (poklesy saturace pod 85 % při frakci kyslíku 21 % dle definice VON), četnost terapie surfaktantem (63,5 %) je srovnatelná s rozsáhlými populačními vzorky velmi nezralých novorozenců.

Hypotenze

Definice hypotenze u velmi nezralých novorozenců a kritéria intervence mají obrovskou variabilitu mezi státy, regiony i jednotlivými centry. Obvyklé je použití konkrétních hodnot krevního tlaku (75 % respondentů), případně kombinace s klinickými (prodloužený kapilární návrat, bradykardie), laboratorními (sérová hladina laktátu), nebo echokardiografickými nálezy⁹⁴. V centrech s nejvyšší incidencí dosahuje četnost jakékoli intervence u těžce nezralých novorozenců 98 %, nízká četnost je pod 30 %⁹⁵. V analyzované části studované populace byla četnost terapie hypotenze 33,3 %. Vzhledem k zahrnutí nikoli pouze těžce nezralých novorozenců jde o relativně vysokou četnost, která odráží i nejistou vazbu mezi systémovou perfusí a konkrétními hodnotami krevního tlaku v klinické praxi.

Terapie perzistujícího *ductus arteriosus*

Četnost jakékoli terapie (farmakologická, chirurgická) perzistujícího *ductus arteriosus* (PDA) u velmi nezralých novorozenců v Evropě je, podobně jako u řady dalších morbidit, extrémně variabilní. Dosahuje rozpětí 10-39 % mezi jednotlivými evropskými regiony a je inverzně asociována s gestačním stářím⁹⁶. Četnost chirurgické ligace PDA je oproti pokusům o farmakologický uzávěr významně nižší (1:10-20). Léčba PDA zvyšuje riziko úmrtí nebo BPD (relativní riziko 1,33) bez ohledu na region. Nízká četnost je pod 15 %, vysoká nad 25 %. V analyzované části studované populace byla četnost terapie PDA 14,9 % a je tak možné jí označit za nízkou.

Umělá plicní ventilace

Použití a délka umělé plicní ventilace (UPV) u velmi nezralých novorozenců dlouhodobě klesá. Důvodem je prokázaná asociace s rozvojem BPD/CLD a narušením dlouhodobého vývoje. Ve srovnatelné nizozemské retrospektivní kohortě byl medián UPV u ventilovaných novorozenců porozených mezi 24. a 30. týdnem těhotenství 2 dny (IQR 0,85-6,02) ⁹⁷. Délka UPV v analyzované části studované populace byla téměř totožná (medián 2 dny, IQR 0-9). To pravděpodobně znamená standardní taktiku v minimalizaci invazivní ventilační podpory ve srovnání s evropskými centry.

Parenterální výživa

Doba, po kterou je nutná parenterální výživa (PN), je výsledkem působení různých faktorů. Důležitou roli hraje celková morbidita, taktika iniciace, navyšování a obohacování enterální nutrice a složení samotné PN. U těžce nezralých je nutná minimálně 10-14 dnů. Medián délky PN u velmi nezralých v recentní italské studii zaměřené na její energetické obohacení byl 12 dnů (IQR 10-15) ⁹⁸. Taktika iniciace a navyšování (20-30 ml/kg/den) enterální stravy byla totožná se studovanou populací. Hranice pro dostatečný enterální příjem k pokusu o vysazení PN byla vyšší (120 vs. 80-100 ml/kg/den). Délka PN ve studované populaci (medián 11 dnů, IQR 8-16) se tudíž nejeví jako excesivní.

Nitrolební peri/intraventrikulární krvácení

Incidence nitrolební peri/intraventrikulární hemoragie (PIVH) je v některých studiích uváděna celkově, v jiných podle stupňů závažnosti, nebo v některých rozsáhlých populačních studiích se zaměřením pouze na závažné formy. Aktuální klasifikace dělí PIVH na čtyři stupně. Krvácení do oblasti germinální matrix je I. stupeň (**Obr. 7**). II. stupeň je krvácení do postranní komory zabírající méně než 50 % jejího objemu (**Obr. 8**, nahoře). III. stupeň představuje intraventrikulární hemoragii zabírající více než 50 % objemu s dilatací postižené postranní komory (**Obr. 8**, dole). IV. stupeň je charakterizován přítomností intraparenchymální echogenity, která vzniká hemoragickou infarzací v periventrikulární bílé hmotě (**Obr. 9**) ⁹⁹. Pokusy o úpravu klasifikace s ohledem na mechanismy vzniku ke změně prozatím nevedly a popsaná klasifikace v literatuře převládá ^{100, 101}. V čínské populační studii je celková incidence PIVH 15,4 %, ale bez zahrnutí pacientů porozených pod 25. týden těhotenství, vzhledem k jejich stoprocentní mortalitě ⁸⁷. Ve francouzské kohortě velmi nezralých novorozenců z roku 2011 byla celková incidence 36,2 %, incidence podle závažnosti PIVH I.-IV. stupně byla 17, 12, 1, 3,3 a 3,8 % ¹⁰². V evropské studii zaměřené na morbiditu velmi nezralých novorozenců byla

incidence těžkých forem PIVH 3,9 % (rozmezí dle regionů 2,2-8,9 %) ⁸⁶. Ve studované populaci byla celková incidence PIVH 21,5 %, incidence podle závažnosti PIVH I.-IV. stupně byla 11,1, 3,1, 1,4 a 5,9 %, těžké formy tedy tvořily 6,3 %. Ve srovnání s většími populačními vzorky je celková incidence ve studované populaci nízká s relativně vyšším zastoupením těžkých forem, především PIVH IV. stupně.

Nekrotizující enterokolitida a retinopatie z nezralosti

Nekrotizující enterokolitida (NEC) je zánětlivé střevní onemocnění charakterizované transmurální nekrózou, silně asociované s nízkým gestačním stářím. V klinické praxi převládá diagnostika podle modifikovaných kritérií dle Bella ¹⁰³. V populačních studiích je uváděna incidence závažných forem NEC, tedy \geq IIB podle modifikovaných Bellových kritérií, případně formy onemocnění vyžadující invazivní terapii (operační řešení, peritoneální drenáž). Průměrná incidence těžké NEC u velmi nezralých mezi 16. evropskými centry byla 1,9 % (rozmezí 0,1 - 4,7 %), v Číně 3,9 % ^{86, 87}. Ve studované populaci je incidence NEC vysoká, 6,8 %. Je to důsledek vyřazení pacientů bez dostupných laboratorních výsledků (376), z nichž žádný neměl NEC. V celé populaci pacientů vhodných k zařazení do studie je incidence 3 % (20/669), tedy mírně nadprůměrná.

Podobně jsou v populačních studiích uváděny pouze těžké formy retinopatie z nezralosti (ROP). V pětistupňové klasifikaci, dle nálezů na očním pozadí, formy 3 a více. Průměrná incidence těžkých forem ROP je v Evropě 3,7 %, nicméně s výraznými lokálními rozdíly (rozmezí 0,3 - 10,3 %) ⁸⁶. Ve studované populaci je uváděna jakákoliv forma ROP a výsledná incidence je tak zdánlivě velmi vysoká. Ani terapie ROP, ve smyslu laser-koagulace očního pozadí nebo intravitreální aplikace anti-VEGF protilátek, neodráží incidenci těžkých forem ve studované populaci. Posledním a zásadním faktorem, který vede k vysoké incidenci ROP a terapie ROP ve studované populaci, je opět vyřazení pacientů bez dostupných laboratorních výsledků. Incidence těžkých forem ROP v celé populaci pacientů vhodných k zařazení do studie je 5,1 %, tudíž také mírně nadprůměrná.

5.2 Srovnání proměnných u pacientů s CLD a pacientů bez CLD

Gestační věk, porodní hmotnost, pohlaví a způsob porodu

Srovnání gestačního stáří a porodní hmotnosti u pacientů s CLD a bez potvrzuje zásadní roli těchto proměnných v rozvoji onemocnění (**Graf 1-5**). Incidence CLD u přeživších pacientů porozených po dokončení 23. a 24.týdne je přibližně 70 % a se vzrůstajícím gestačním stářím klesá. Podobně 75 % pacientů s CLD mělo ve studované populaci porodní hmotnost pod 1000 g. Vliv pohlaví a způsobu porodu při srovnání skupin prokázán nebyl. U způsobu porodu jde o očekávaný výsledek. U pohlaví je důvodem pravděpodobně nedostatečná velikost vzorku.

Fetální růstová restrikce

Přes relativně nízkou četnost fetální růstové restrikce ve studované populaci, prokázalo srovnání skupin významný vliv na rozvoj CLD. Relativní riziko rozvoje CLD je 1,78 (95 % CI 1,21-2,6) a odpovídá tak literárně uváděné hodnotě, která je přibližně 2²⁴.

Monochoriální komponenta vícečetné gravidity

Monochoriální komponenta vícečetné gravidity nepatří mezi uváděné rizikové faktory rozvoje BPD/CLD a zjištěné rozdíly, případně jejich absence, mezi monozygotními a dizygotními dvojčaty spíše demonstrují možnou dědičnou predispozici pro rozvoj onemocnění^{25, 28, 104}. Limitovaná data z center fetální medicíny podtrhují především význam komplikací spojených s monochoriálními dvojčaty/vícerčaty v rozvoji BPD/CLD^{105, 106}. Jmenovitě je to selektivní fetální růstová restrikce (sFGR), „*twin-to-twin transfusion syndrome*“ (TTTS) a „*twin-anemia polycythemia sequence*“ (TAPS). Ve studované populaci představuje monochoriální komponenta vícečetné gravidity relativní riziko rozvoje CLD 1,81 (95 % CI 1,27-2,58). Komplikace monochoriálních vícečetných gravidit nebyly analyzovány.

Pozdní podvaz pupečníku a těžká porucha adaptace

Těžká porucha adaptace byla ve sledované populaci definována nutností endotracheální intubace v prvních 15. minutách po narození. Obvykle i u velmi nezralých novorozenců reflektuje prenatální komplikaci. Příčinnou může být např. hypoxie, krvácení, infekce nebo porodní traumatismus¹⁰⁷. Vzhledem k preferenci pozdního podvazu pupečníku v klinické praxi¹⁰⁸, je jeho neprovedení způsobeno zřejmou těžkou kompromitací novorozence po vybavení z děložní dutiny a je tedy úzce spojeno právě s těžkou poruchou adaptace. Relativní riziko rozvoje CLD při těžké poruše adaptace ve studované populaci bylo 1,98 (95 % CI 1,4-

2,8). Rozsáhlejší studie potvrzují asociaci časně endotracheální intubace a rozvoje CLD, ale pouze v případě nezahrnutí vlivu následné umělé plicní ventilace ¹⁰⁹.

Umělá plicní ventilace

Významný rozdíl v době umělé plicní ventilace (UPV) mezi skupinami byl očekávaný výsledek potvrzující zásadní roli invazivní ventilační podpory v rozvoji CLD. Poměr šancí (OR) pro rozvoj CLD při UPV více než 5 dnů byl 3,56. Všichni pacienti ve skupině s CLD byli exponováni UPV. Citovaná rozsáhlá studie zaměřená na rozdíly v incidenci CLD mezi terciárními centry uvádí jako kritickou délku UPV 24 hodin (OR 2,4) a 7 dnů (OR 14,9) ¹⁰⁹.

Syndrom dechové tísně novorozenců a terapie exogenním surfaktantem

Vzhledem k použité definici RDS a vysoké incidenci ve studované populaci, nebyl prokázán rozdíl mezi skupinami. Naopak v terapii exogenním surfaktantem odražejícím tíži RDS byl rozdíl významný. Relativní riziko rozvoje CLD bylo 2,87 (95 % CI 1,7-4,8). Podobně jako u těžké poruchy adaptace není zahrnut vliv UPV, s níž je těžší průběh RDS silně asociován.

Inhalační terapie oxidem dusnatým

Inhalační terapie oxidem dusnatým (iNO) pro syndrom perzistující plicní hypertenze, v rámci průběhu RDS, není standardním terapeutickým postupem u velmi a extrémně nezralých novorozenců ¹¹⁰. I přes nedostatek důkazů o pozitivním vlivu této terapeutické modalit na průběh a dopad RDS, použití v klinické praxi narůstá ¹¹⁰. Ve studované populaci byla tato terapie použita u nejtěžších klinických forem RDS a důsledkem je relativní riziko pro rozvoj CLD 3,11 (95 % CI 2,3-4,2).

Hypotenze

Terapie hypotenze u velmi nezralých novorozenců je silně závislá na lokálních doporučených postupech a je extrémně variabilní mezi jednotlivými centry a regiony ^{94, 95}. Ve studované populaci jde o proměnnou charakterizující (podobně jako terapie surfaktantem a iNO) míru iniciální nestability v prvních hodinách a dnech po narození, případně míru nestability u pozdních komplikací (např. pozdní infekce). Třebaže je vztah mezi hypotenzí, systémovou perfuzí a dlouhodobými následky předčasného narození nejasný, asociace s nepříznivými, především neurokognitivními, dopady byla opakovaně demonstrována ⁹⁵. Relativní riziko rozvoje CLD je 2,67 (95 % CI 1,9-3,8).

Perzistující *ductus arteriosus* a jeho terapie

Významné rozdíly v načasování uzávěru PDA a jeho léčbě mezi skupinami zřejmě odráží především rozdíly v gestačním stáří¹¹¹. Výše zmíněná provázanost nezralosti, PDA a celkové nemocnosti v současnosti znemožňuje odlišit asociaci od kauzálního působení²³. Uzávěr PDA před 21.dnem po narození snižuje riziko rozvoje CLD ve studované populaci přibližně o polovinu (RR 0,58, 95 % CI 0,4-0,8), naopak uzávěr po 21.dnu tedy vede k přibližně dvojnásobnému zvýšení (RR 2,0, 95 % CI 1,4-2,8). Nutnost terapie (farmakologické a/nebo chirurgické) také zvyšuje riziko dvojnásobně (RR 2,15, 95 % CI 1,5-3,1).

Parenterální výživa

Doba nutnosti parenterální terapie u velmi nezralých novorozenců, podobně jako uzávěr PDA, představuje proměnnou spojenou s celkovou nemocností, a tudíž i s např. již zmíněnou postnatální růstovou restrikcí, která je s rozvojem CLD silně asociována¹¹². Při trvání parenterální nutrice více než 13 dnů, byl OR rozvoje CLD 2,25.

PIVH, NEC, ROP

PIVH, NEC a ROP jsou morbiditily silně asociované s nízkým gestačním stářím, nízkou porodní hmotností a celkovou nemocností⁸⁶. Významné rozdíly mezi skupinami v incidenci PIVH, NEC a ROP spíše podtrhují význam těchto základních rizikových faktorů.

5.3 Systémová zánětová odpověď a infekční komplikace

Časný systémový zánět a časná infekce

Systémová zánětová odpověď v prvních 24.hodinách po narození vyjádřená časnou vrcholovou hodnotou IL-6 v séru byla významně zvýšená u pacientů s CLD. Tento výsledek je ve shodě s dalšími daty asociujícími zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů se zvýšeným rizikem rozvoje CLD³⁴.

Analogicky časná novorozenecká seps/infekce (EOS, dle použité definice v průběhu prvních 72.hodin po narození) zvyšuje riziko rozvoje CLD. Incidence prokázané EOS u velmi nezralých novorozenců je udávána 13,5/1000¹¹³. Nicméně incidence vysoce suspektních časných infekcí bez pozitivní hemokultury je přibližně desetinásobná¹¹⁴. Tato data odpovídají incidenci EOS ve studované populaci. Relativní riziko rozvoje CLD u pacientů s EOS bylo 2,03 (95 % CI 1,4-2,9). Perzistence systémového zánětu po narození u velmi nezralých novorozenců tudíž nepochybně k riziku rozvoje CLD významně přispívá^{23, 115}.

Pozdní systémový zánět a pozdní infekce

Systemová zánětová odpověď ve věku více než 7 dní po narození vyjádřená pozdní vrcholovou hodnotou IL-6 byla také významně zvýšená u pacientů s CLD. Přestože je tento výsledek statisticky významný, reálný rozdíl v absolutních laboratorních hodnotách není velký (přibližně 50 ng/l) a v běžné praxi nemusí být klinicky významný ⁷⁰.

Incidence LOS se jeví být ve studované populaci vysoká, vzhledem k udávané incidenci u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti 10-30 %, která se dlouhodobě příliš nemění ¹¹⁶. Při zahrnutí celé studované populace, vzhledem k vyřazení pacientů bez dostupných laboratorních hodnot, kteří pozdní infekci neměli, je incidence LOS 15 %, tedy relativně nízká. Pozdní novorozenecká sepse/infekce je prokazatelně asociována se zvýšeným rizikem rozvoje CLD a riziko vzrůstá s počtem infekčních epizod během hospitalizace po narození ¹¹⁷. Ve studované populaci bylo relativní riziko rozvoje CLD při LOS 1,43 (95 % CI 1-2), což odpovídá riziku jedné pozdní infekční epizody ve výše citované práci ¹¹⁷. Hlavní příčinou zvýšení rizika rozvoje CLD u pacientů s pozdní sepsí/infekcí je však pravděpodobně především nutnost expozice umělé plicní ventilaci ¹¹⁸.

Pneumonie

Pneumonie byla ve studované populaci definována závěrem na základě radiologického a klinického obrazu dle *Vermont Oxford Network* ⁸⁴. Incidence odpovídá literárně uváděným hodnotám ¹¹⁹. Relativní riziko rozvoje CLD u pacientů s pneumonií bylo 3,11 (95 % CI 2,3-4,3). Systemová zánětová odpověď u velmi nezralých novorozenců s pneumonií vyjádřená sérovou hladinou IL-6 nedosahuje středních hodnot srovnatelných s LOS nebo NEC ⁷⁰. Tyto výsledky naznačují význam lokálního perzistujícího zánětu.

5.4 Dynamika časné zánětové odpovědi a riziko CLD

Data o hodnocení dynamiky systémové zánětové odpovědi u velmi nezralých novorozenců v prvních 24.hodinách po narození v literatuře nejsou dostupná. Přestože rozdíl v dynamice u pacientů s CLD a bez dosáhl statistické významnosti, k predikci rozvoje CLD použít nelze. Hodnocení proměnných s významným vlivem na časný vzestup sérového IL-6 potvrzuje vliv umělé plicní ventilace (především nekonvenční), hypotenze a časné infekce. Tyto výsledky mohou být interpretovány především v kontextu celkové nemocnosti v průběhu prvních 24.hodin. Vliv terapie exogenním surfaktantem pouze v případě kombinace s umělou plicní ventilací podporuje data o protektivním působení terapie surfaktantem na rozvoj CLD ³².

5.5. Logistické regresní modely

Z prvního modelu binární logistické regrese vyplývá praktická nepoužitelnost pozdní, ale i časné vrcholové hodnoty sérového IL-6 v predikci rozvoje CLD. Nicméně vyřazení pozdní vrcholové hodnoty a ponechání časné vrcholové hodnoty ve výsledném modelu naznačuje, že časná systémová zánětová odpověď v prvních 24.hodinách po narození je významnějším rizikem pro rozvoj CLD ve srovnání se systémovým zánětem ve věku nad 7 dnů po narození. Nízký Nagelkerkův koeficient determinace (0,021) a výsledná klasifikační tabulka prvního modelu (**Tab. 6**) vedou k závěru, že absence časné systémové zánětové odpovědi je významným protektivním faktorem před pozdějším rozvojem onemocnění.

Tento závěr podporuje i druhý model, založený na faktorech známých ve věku 24 hodin po narození, kde se jako klíčová rizika jeví gestační stáří, fetální růstová restrikce a překvapivě monochoriální komponenta vícečetné gravidity. Vzhledem k relativně vysoké četnosti monochoriálních dvojčat/vícerčat a pacientů s fetální růstovou restrikcí v souboru (nad 10 %), je ovšem vyjádření pomocí relativního rizika pravděpodobně přesnější, než poměr šancí, na němž jsou regresní modely založené. To také vysvětluje velmi omezenou použitelnost druhého modelu v predikci rozvoje CLD.

Třetí model založený na faktorech známých ve věku 14.dnů po narození potvrzuje zásadní roli nízké porodní hmotnosti (příp. nízkého gestačního věku při narození) a UPV v rozvoji CLD. Dobu parenterální výživy je možné interpretovat jako marker celkové nemocnosti v prvních dvou týdnech po narození. Bohužel ani třetí model nedosahoval dostatečné úspěšnosti v predikci rozvoje CLD.

V současnosti používané modely predikce CLD jsou založené na gestačním stáří, porodní hmotnosti, ventilační podpoře a nárocích na kyslík v různých časových bodech po narození¹²⁰. Praktické použití je podobně limitované jako u modelů konstruovaných v rámci této výzkumné práce.

5.6. Predikce CLD pomocí mezních hodnot IL-6 v séru

Přestože analýza časných vrcholových hodnot umožnila stanovení mezní hodnoty sérového IL-6, prediktivní hodnota testu je slabá. Hodnota AUC pod 0,75 (konkrétně 0,62) je neuspokojivá a vede k nepoužitelnosti v praktické predikci rozvoje onemocnění. Přesto je možné konstatovat, že negativní prediktivní hodnota 77 % znamená, že absence časné systémové zánětové odpovědi vyjádřená sérovou hladinou pod 175 ng/l je protektivním faktorem. V kombinaci

s absencí dalších rizikových faktorů (FGR, monochorionicita, UPV) je možné takovéto pacienty spíše nezařazovat do intervenčních studií zaměřených na prevenci rozvoje CLD.

5.7. Limitace výzkumné práce

Tento výzkumný projekt má celou řadu důležitých limitací. První je definice CLD zacílená na střední a těžkou formu onemocnění. Řada výzkumných prací používá definici zahrnující mírné formy onemocnění a srovnání výsledků tak může být zkreslené. Další limitací je definice novorozenecké sepse zahrnující pacienty bez pozitivní hemokultury. Konsenzuální definice novorozenecké sepse, v současnosti založená právě na pozitivní hemokultuře, je ovšem považována za vysoce problematickou ¹²¹. Je důležité zmínit, že druhá laboratorní hodnota časného sérového IL-6 byla měřena v širokém časovém rozmezí, což při rychlosti dynamiky IL-6 může značně ovlivnit výsledek. Retrospektivní analýza případů a kontrol a nevyváženost skupin jsou další zřejmá omezení v interpretaci výsledků.

6.0 Závěr

Systémová zánětová odpověď u velmi nezralých novorozenců vyjádřená sérovou hladinou IL-6 je významně asociována s rozvojem CLD ve studované populaci. Pacienti se sérovou hladinou pod 175 ng/l v prvních 24.hodinách po narození mohou být, při absenci dalších rizikových faktorů, vhodnými kandidáty spíše pro nezařazení do intervenčních studií zaměřených na prevenci rozvoje CLD.

A. Hlavními rizikovými faktory rozvoje CLD ve věku 24 hodin po narození jsou, kromě gestačního stáří, fetální růstová restrikce a překvapivě monochoriální komponenta vícečetné gravidity. Ve věku 14 dnů po narození jsou hlavními rizikovými faktory, vyjma umělé plicní ventilace, doba parenterální nutrice a nízká porodní hmotnost.

B. Časná systémová zánětová odpověď v prvních 24.hodinách po narození je kvantitativně významnějším rizikem pro rozvoj CLD ve srovnání se systémovým zánětem ve věku nad 7 dnů po narození.

C. Přestože bylo možné identifikovat mezní hodnotu sérového IL-6 v prvních 24.hodinách po narození 175 ng/l, tato hodnota nemá dostatečné diagnostické vlastnosti pro spolehlivou predikci rozvoje CLD.

Literatura

1. Northway WJ, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med*. 1967; 276(7): 357–368.
2. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet*. 2006; 367(9520):1421–1431.
3. Stoll BJ, et al. Trends in care practices, morbidity, and mortality of extremely preterm neonates, 1993–2012. *JAMA*. 2015; 314(10):1039–1051.
4. Gortner L, et al. Rates of bronchopulmonary dysplasia in very preterm neonates in Europe: results from the MOSAIC cohort. *Neonatology*. 2011; 99:112–117.
5. Ehrenkranz RA, et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2005; 116(6):1353–1360.
6. Isayama T, Lee SK, Yang J, et al. Canadian Neonatal Network and Canadian Neonatal Follow-Up Network Investigators. Revisiting the Definition of Bronchopulmonary Dysplasia: Effect of Changing Panoply of Respiratory Support for Preterm Neonates. *JAMA Pediatr*. 2017;171(3):271-279.
7. Higgins RD, Jobe AH, Koso-Thomas M, et al. Bronchopulmonary Dysplasia: Executive Summary of a Workshop. *J Pediatr*. 2018;197:300-308.
8. Schittny J. Development of the lung. *Cell and Tissue Research*. 2017; 367(3): 427–444.
9. Niedermaier S, Hilgendorff A. Bronchopulmonary dysplasia—an overview about pathophysiologic concepts. *Molecular and Cellular Pediatrics*. 2015; 2(1).
10. Shahzad T, et al. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia: when inflammation meets organ development. *Molecular and Cellular Pediatrics*. 2016; 3(1).

11. Lancaster M, Knoblich J. Organogenesis in a dish: Modeling development and disease using organoid technologies. *Science*. 2014; 345(6194): 1247125-1247125.
12. Thebaud B, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia: where have all the vessels gone? Roles of angiogenic growth factors in chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 175:978–985
13. Maeda Y, Dave V, Whitsett JA. Transcriptional control of lung morphogenesis. *Physiol Rev*. 2007; 87:219–244
14. Sucre JM, Vijayaraj P, Aros CJ, et al. Posttranslational modification of β -catenin is associated with pathogenic fibroblastic changes in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2017; 312(2):186–195.
15. Ryan R, Ahmed Q, Lakshminrusimha S. Inflammatory Mediators in the Immunobiology of Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2007; 34(2):174-190.
16. Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia: a continuing story. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006; 11(5):354–362
17. Tomlinson M, Lu K, Stewart J, et al. Microorganisms in the Placenta: Links to Early-Life Inflammation and Neurodevelopment in Children. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(3)
18. Ballard AR, Mallett LH, Pruszyński JE, Cantey JB. Chorioamnionitis and subsequent bronchopulmonary dysplasia in very-low-birth weight infants: A 25 - year cohort. *J Perinatol*. 2016; 36:1045–1048.
19. Krediet TG, Kavelaars A, Vreman HJ, et al. Respiratory distress syndrome-associated inflammation is related to early but not late peri/intraventricular hemorrhage in preterm infants. *J Pediatr*. 2006.;148(6):740–746.
20. Prince LR, Maxwell NC, Gill SK, et al. Macrophage phenotype is associated with disease severity in preterm infants with chronic lung disease. *Plos One*. 2014. 12;9(8):103059.

21. Kotecha S. The role of neutrophil apoptosis in the resolution of acute lung injury in newborn infants. *Thorax*. 2003; 58(11): 961-967.
22. Iosef C, Alastalo TP, Hou Y, et al. Inhibiting NF-kappaB in the developing lung disrupts angiogenesis and alveolarization. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 302:1023–1036.
23. Trembath A, Laughon M. Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Perinatol*. 2012; 39(3):585-601.
24. Bose C, Van Marter LJ, Laughon M, et al. Fetal growth restriction and chronic lung disease among infants born before the 28th week of gestation. *Pediatrics*. 2009; 124:450–8.
25. Davidson L, Berkelhamer S. Bronchopulmonary Dysplasia: Chronic Lung Disease of Infancy and Long-Term Pulmonary Outcomes. *J Clin Med*. 2017; 6(1):4.
26. Ehrenkranz, RA, Das A, Wrage LA, et al. Early nutrition mediates the influence of severity of illness on extremely LBW infants. *Pediatr Res*. 2011; 69:522–529.
27. Warford C, Agvateesiri S, Berkelhamer S, et al. Postnatal growth restriction augments oxygen-induced pulmonary hypertension in a neonatal rat model of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res*. 2016; 80:894–902.
28. Lavoie PM, Pham C, Jang KL. Heritability of bronchopulmonary dysplasia, defined according to the consensus statement of the national institutes of health. *Pediatrics*. 2008; 122:479–485.
29. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010; 126:443–56.
30. Vento M, Moro M, Escrig R, et al. Preterm resuscitation with low oxygen causes less oxidative stress, inflammation, and chronic lung disease. *Pediatrics*. 2009; 124:439–449.

31. Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, Hallman M, Ozek E, Plavka R et al. European Consensus Guidelines on the Management of Respiratory Distress Syndrome - 2016 Update. *Neonatology* 2017; 111:107–25.
32. Isayama T, Chai-Adisaksopha C, McDonald SD. Noninvasive Ventilation With vs Without Early Surfactant to Prevent Chronic Lung Disease in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2015;169(8):731–739.
33. Lapcharoensap W, Kan P, Powers RJ, et al. The Relationship of Nosocomial Infection Reduction to Changes in Neonatal Intensive Care Unit Rates of Bronchopulmonary Dysplasia. *J Pediatr.* 2017; 180:105-109.
34. D'Angio CT, Ambalavanan N, Carlo WA, et al. Blood Cytokine Profiles Associated with Distinct Patterns of Bronchopulmonary Dysplasia among Extremely Low Birth Weight Infants. *J Pediatr.* 2016; 174:45-51.
35. Shah SS, Ohlsson A. Ibuprofen for the prevention of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006:CD004213.
36. Subramaniam P, Ho JJ, Davis PG. Prophylactic nasal continuous positive airway pressure for preventing morbidity and mortality in very preterm infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016.
37. Cools F, Offringa M, Askie LM. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015.
38. Wheeler K, Klingenberg C, McCallion N, et al. Volume-targeted versus pressure-limited ventilation in the neonate. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2010.
39. Rabi Y, Singhal N, Nettel-Aguirre A. Room-Air Versus Oxygen Administration for Resuscitation of Preterm Infants: The ROAR Study. *Pediatrics.* 2011; 128:e374–e81.

40. Oei JL, Vento M. Is There a "Right" Amount of Oxygen for Preterm Infant Stabilization at Birth? *Front Pediatr.* 2019; 7:354.
41. Stenson BJ. Oxygen saturation targets for extremely preterm infants after the neoprom trials. *Neonatology.* 2016; 109:352–358.
42. Kennedy KA, Cotten CM, Watterberg KL, Carlo WA. Prevention and management of bronchopulmonary dysplasia: Lessons learned from the neonatal research network. *Semin Perinatol.* 2016;40(6):348-355.
43. Yoder BA, Harrison M, Clark RH. Time-related changes in steroid use and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Pediatrics.* 2009; 124:673–679.
44. Baud O, Maury L, Lebail F, et al. Effect of early low-dose hydrocortisone on survival without bronchopulmonary dysplasia in extremely preterm infants (premiloc): A double-blind, placebo-controlled, multicentre, randomised trial. *Lancet.* 2016; 387:1827–1836.
45. Onland W, Offringa M, van Kaam A. Late (>7 days) inhalation corticosteroids to reduce bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2012.
46. Taha D, Kirkby S, Nawab U, et al. Early caffeine therapy for prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014; 27:698–1702.
47. Darlow BA, Graham PJ, Rojas-Reyes MX. Vitamin a supplementation to prevent mortality and shortand long-term morbidity in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016.
48. Van Meurs KP, Wright LL, Ehrenkranz RA, et al. Inhaled nitric oxide for premature infants with severe respiratory failure. *New Engl J Med.* 2005;353:13–22.
49. Kumar P. Committee on Fetus and Newborn. Use of inhaled nitric oxide in preterm infants. *Pediatrics.* 2014;133:164–170.

50. DeMauro S. The Impact of Bronchopulmonary Dysplasia on Childhood Outcomes. *Clin Perinatol*. 2018; 45(3):439-452.
51. Ambalavanan N, Carlo WA, McDonald SA, et al. Identification of extremely premature infants at high risk of rehospitalization. *Pediatrics*. 2011; 128(5):1216–25.
52. Cristea AI, Carroll AE, Davis SD, et al. Outcomes of children with severe bronchopulmonary dysplasia who were ventilator dependent at home. *Pediatrics*. 2013; 132:727–34.
53. Sanchez-Solis M, Perez-Fernandez V, Bosch-Gimenez V, et al. Lung function gain in preterm infants with and without bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol*. 2016; 51:936–942.
54. Sozo F, Horvat JC, Essilfie AT, et al. Altered lung function at mid-adulthood in mice following neonatal exposure to hyperoxia. *Respir Physiol Neurobiol*. 2015; 218:21–27.
55. Bates ML, Farrell ET, Eldridge MW. Abnormal ventilatory responses in adults born prematurely. *New Engl J Med*. 2014; 370:584–585.
56. Kim DH, Kim HS, Choi CW, et al. Risk factors for pulmonary artery hypertension in preterm infants with moderate or severe bronchopulmonary dysplasia. *Neonatology*. 2012; 101:40–46.
57. Trittman JK, Nelin LD, Klebanoff MA. Bronchopulmonary dysplasia and neurodevelopmental outcome in extremely preterm neonates. *Eur J Pediatr*. 2013; 172(9): 1173–1180.
58. Onland W, Debray T, Laughon M et al. Clinical prediction models for bronchopulmonary dysplasia: a systematic review and external validation study. *BMC Pediatr*. 2013; 13(1).
59. Rivera L, Siddaiah R, Oji-Mmuo C, et al. Biomarkers for Bronchopulmonary Dysplasia in the Preterm Infant. *Frontiers in Pediatrics*. 2016; 4.

60. Lal C, Ambalavanan N. Cellular and humoral biomarkers of Bronchopulmonary Dysplasia. *Early Hum Dev.* 2017; 105:35–39.
61. Ambalavanan N, Carlo WA, D’Angio CT, et al. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. *Pediatrics.* 2009; 123(4):1132–1141.
62. Zhang ZQ, Huang XM, Lu H. Early biomarkers as predictors for bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2014; 173:15–23.
63. Lal C, Ambalavanan N. Biomarkers, Early Diagnosis, and Clinical Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Perinatol.* 2015; 42(4):739-754.
64. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014; 6, a016295
65. Giannoudis PV, Harwood PJ, Loughenbury P, Van Griensven M, Krettek C, Pape HC. Correlation between IL-6 levels and the systemic inflammatory response score: can an IL-6 cutoff predict a SIRS state? *J Trauma.* 2008; 65(3):646-652.
66. Fioretto, J., Martin, J., Kurokawa, C., et al. Interleukin-6 and procalcitonin in children with sepsis and septic shock. *Cytokine.* 2008; 43(2):160-164.
67. Sorokin Y, Romero R, Mele L, et al. Umbilical cord serum interleukin-6, C-reactive protein, and myeloperoxidase concentrations at birth and association with neonatal morbidities and long-term neurodevelopmental outcomes. *Am J Perinatol.* 2014; 31(8):717-726.
68. Tsalik E, Jagers B, Glickman SW, et al. Discriminative value of inflammatory biomarkers for suspected sepsis. *J Emerg Med.* 2012; 43:97-106
69. Jekarl DW, Lee SY, Lee J, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 75(4):342-347.

70. Berka I, Korček P, Straňák Z. C-Reactive Protein, Interleukin-6, and Procalcitonin in Diagnosis of Late-Onset Bloodstream Infection in Very Preterm Infants. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2021 Aug 3:piab071. doi: 10.1093/jpids/piab071. Epub ahead of print. PMID: 34343328.
71. Levy MM, Fink MP, Marschall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definition Conference. *Crit Care Med* 2003; 31:1250-6
72. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315(8):801-810.
73. Matics TJ, Sanchez-Pinto LN. Adaptation and Validation of a Pediatric Sequential Organ Failure Assessment Score and Evaluation of the Sepsis-3 Definitions in Critically Ill Children. *JAMA Pediatr.* 2017; 171(10):e172352.
74. Molloy E, Wynn J, Bliss J et al. Neonatal sepsis: need for consensus definition, collaboration and core outcomes. *Pediatr Res* 2020; 88(1):2-4.
75. Hofer N, Müller W, Resch B. Definitions of SIRS and sepsis in correlation with early and late onset neonatal sepsis. *J Pediatr Intensive Care.* 2012; 1(1):17-23.
76. Wynn JL, Polin RA. A neonatal sequential organ failure assessment score predicts mortality to late-onset sepsis in preterm very low birth weight infants. *Pediatr Res.* 2020; 88(1):85-90.
77. Ambalavanan N, Carlo WA, D'Angio CT, et al. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. *Pediatrics.* 2009; 123(4):1132–1141.
78. Korček P, Korčeková Z, Berka I, Kučera J, Straňák Z. Corpus Callosum Growth and Neurodevelopmental Outcome Are Negatively Influenced by Systemic Infection in Very Low-Birth-Weight Infants. *J Child Neurol.* 2021;36(10):883-887.
79. <https://www.fda.gov/media/138595/download>

80. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 48: 333-339.
81. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* 2013; 13: 59.
82. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF et al. Early-onset neonatal sepsis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 27:21–47.
83. Bekhof J, Reitsma JB, Kok JH, Van Straaten, IHLM. Clinical signs to identify late-onset sepsis in preterm infants. *Eur J Pediatr.* 2012; 172(4), 501–508.
84. Horbar JD. The Vermont Oxford Network: evidence-based quality improvement for neonatology. *Pediatrics.* 1999; 103: 350-359.
85. Siffel C, Kistler KD, Lewis JFM, Sarda SP. Global incidence of bronchopulmonary dysplasia among extremely preterm infants: a systematic literature review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021; 34(11):1721-1731.
86. Edstedt Bonamy AK, Zeitlin J, Piedvache A, et al. Wide variation in severe neonatal morbidity among very preterm infants in European regions. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019; 104:36–45.
87. Kong X, Xu F, Wu R et al. Neonatal mortality and morbidity among infants between 24 to 31 complete weeks: a multicenter survey in China from 2013 to 2014. *BMC Pediatr.* 2016; 16(1).
88. Lee CM, Yang SH, Lee SP, Hwang BC, Kim SY. Clinical factors affecting the timing of delivery in twin pregnancies. *Obstet Gynecol Sci.* 2014; 57(6):436-441.
89. Heino A, Gissler M, Hindori-Mohangoo AD, et al. Variations in Multiple Birth Rates and Impact on Perinatal Outcomes in Europe. *PLoS One.* 2016; 11: e0149252.

90. Moldenhauer JS, Johnson MP. Diagnosis and management of complicated monochorionic twins. *Clin Obstet Gynecol.* 2015; 58: 632-642.
91. Zeitlin J, Bonamy AE, Piedvache A, et al. Variation in term birthweight across European countries affects the prevalence of small for gestational age among very preterm infants. *Acta Paediatr.* 2017; 106(9):1447-1455.
92. Martherus T, Oberthuer A, Dekker J, et al. Comparison of Two Respiratory Support Strategies for Stabilization of Very Preterm Infants at Birth: A Matched-Pairs Analysis. *Front Pediatr.* 2019; 7:3.
93. Godeluck A, Gérardin P, Lenclume V et al. Mortality and severe morbidity of very preterm infants: comparison of two French cohort studies. *BMC Pediatr.* 2019; 19(1).
94. Stranak Z, Semberova J, Barrington K, et al. International survey on diagnosis and management of hypotension in extremely preterm babies. *Eur J Pediatr.* 2014;173(6):793-798.
95. Dempsey EM. Challenges in Treating Low Blood Pressure in Preterm Infants. *Children (Basel).* 2015; 2(2):272-288.
96. Edstedt Bonamy AK, Gudmundsdottir A, Maier RF, et al. Patent Ductus Arteriosus Treatment in Very Preterm Infants: A European Population-Based Cohort Study (EPICE) on Variation and Outcomes. *Neonatology.* 2017;111(4):367-375.
97. Vliegenthart RJS, van Kaam AH, Aarnoudse-Moens CSH, van Wassenaer AG, Onland W. Duration of mechanical ventilation and neurodevelopment in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2019; 104(6):631-635.
98. Terrin G, Coscia A, Boscarino G, et al. Long-term effects on growth of an energy-enhanced parenteral nutrition in preterm newborn: A quasi-experimental study. *PLoS One.* 2020; 15(7):e0235540.
99. Mukerji A, Shah V, Shah PS. Periventricular/Intraventricular Hemorrhage and Neurodevelopmental Outcomes: A Meta-analysis. *Pediatrics.* 2015;136(6):1132-1143.

100. Leviton A, Kuban K, Paneth N. Intraventricular haemorrhage grading scheme: time to abandon? *Acta Paediatr.* 2007; 96(9):1254-1256.
101. Whitelaw A. A different view: there is value in grading intraventricular hemorrhage. *Acta Paediatr.* 2007;96(9):1257-1258.
102. Chevallier M, Debillon T, Pierrat V, et al. Leading causes of preterm delivery as risk factors for intraventricular hemorrhage in very preterm infants: results of the EIPAGE 2 cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2017; 216(5):518.e1-518.e12.
103. Patel RM, Ferguson J, McElroy SJ, Khashu M, Caplan MS. Defining necrotizing enterocolitis: current difficulties and future opportunities. *Pediatr Res.* 2020; 88(Suppl 1):10-15.
104. Parad RB, Winston AB, Kalish LA, et al. Role of Genetic Susceptibility in the Development of Bronchopulmonary Dysplasia. *J Pediatr.* 2018; 203:234-241.e2.
105. <https://cdn.doctorsonly.co.il/2018/06/Broncho-Pulmonary-Dysplasia-Among-Monochorionic-Diamniotic-Twins-Comparison-To-Dichorionic-Twins-And-Singletons-Dr.-Smadar-Even-Tov-Friedman.pdf> (Accessed 8.8.2021)
106. Gheorghe CP, Boring N, Mann L, et al. Neonatal Outcomes and Maternal Characteristics in Monochorionic Diamniotic Twin Pregnancies: Uncomplicated versus Twin-to-Twin Transfusion Syndrome Survivors after Fetoscopic Laser Surgery. *Fetal Diagn Ther.* 2020; 47(2):165-170.
107. Sinha SK, Donn SM. Fetal-to-neonatal maladaptation. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006; 11(3):166-173.
108. Delayed Umbilical Cord Clamping After Birth: ACOG Committee Opinion Summary, Number 814. *Obstet Gynecol.* 2020;136(6):1238-1239.

109. Gagliardi L, Bellù R, Lista G, Zanini R; Network Neonatale Lombardo Study Group. Do differences in delivery room intubation explain different rates of bronchopulmonary dysplasia between hospitals? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2011; 96(1):30-35.
110. Carey WA, Weaver AL, Mara KC, Clark RH. Inhaled Nitric Oxide in Extremely Premature Neonates With Respiratory Distress Syndrome [published correction appears in *Pediatrics*. 2018; 142(4)]. *Pediatrics*. 2018; 141(3):e20173108.
111. Semberova J, Sirc J, Miletin J, et al. Spontaneous Closure of Patent Ductus Arteriosus in Infants ≤ 1500 g. *Pediatrics*. 2017; 140(2):e20164258.
112. Rocha G, Guimarães H, Pereira-da-Silva L. The Role of Nutrition in the Prevention and Management of Bronchopulmonary Dysplasia: A Literature Review and Clinical Approach. *Int J Environ Res Public Health*. 2021; 18(12):6245.
113. Flannery DD, Edwards EM, Puopolo KM, et al. Early Onset Sepsis Among Very Preterm Infants. *Pediatrics*. 2021; 148(4):e2021052456
114. Cantey JB, Baird SD. Ending the Culture of Culture-Negative Sepsis in the Neonatal ICU. *Pediatrics*. 2017; 140(4):e20170044.
115. Balany J, Bhandari V. Understanding the Impact of Infection, Inflammation, and Their Persistence in the Pathogenesis of Bronchopulmonary Dysplasia. *Front Med (Lausanne)*. 2015; 2:90.
116. Stoll BJ, Gordon T, Korones SB, et al. Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: a report from the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *J Pediatr*. 1996; 129(1):63-71.
117. Jung E, Lee BS. Late-Onset Sepsis as a Risk Factor for Bronchopulmonary Dysplasia in Extremely Low Birth Weight Infants: A Nationwide Cohort Study. *Sci Rep*. 2019; 9(1):15448.

118. Ebrahimi ME, Romijn M, Vliegenthart RJS, Visser DH, van Kaam AH, Onland W. The association between clinical and biochemical characteristics of late-onset sepsis and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Eur J Pediatr*. 2021; 180(7):2147-2154.
119. Geffers C, Baerwolff S, Schwab F, Gastmeier P. Incidence of healthcare-associated infections in high-risk neonates: results from the German surveillance system for very-low-birthweight infants. *J Hosp Infect* 2008; 68: 214–221.
120. Laughon MM, Langer JC, Bose CL, et al. Prediction of bronchopulmonary dysplasia by postnatal age in extremely premature infants. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011; 183:1715–22.
121. Wynn JL, Polin RA. Progress in the management of neonatal sepsis: the importance of a consensus definition. *Pediatr Res*. 2018; 83:13–5.

Seznam použitých zkratk

ANS	antenatální steroidní terapie
AUC	<i>area under the curve</i>
BMP	<i>bone morphogenic protein</i>
BPD	bronchopulmonální dysplazie
CLD	chronická plicní nemoc novorozenců
CRP	C-reaktivní protein
DAMP	<i>damage associated molecular pattern</i>
DMO	dětská mozková obrna
ECM	extracelulární matrix
EOS	<i>early onset sepsis</i>
FEV1	usilovně vydechnutý objem za 1 s
FGF	<i>fibroblast growth factor</i>
FVC	usilovná vitální kapacita
HFOV	<i>high frequency oscillatory ventilation</i>
HIF	<i>hypoxia-inducible factor</i>
IL	interleukin
INF	interferon
iNO	inhalační terapie oxidem dusnatým
INSURE	<i>INtubation-SURfactant-Extubation</i>
IPE	intraparenchymální echogenita
LISA	<i>less invasive surfactant administration</i>
LOS	<i>late onset sepsis</i>
MMP	matrix metaloproteinázy
NCPAP	<i>nasal continuous airway pressure</i>
NEC	nekrotizující enterokolitida

NF-κB	nukleární faktor kappa B
PAMP	<i>pathogen associated molecular pattern</i>
PDA	perzistující <i>ductus arteriosus</i>
PH	plicní hypertenze
PIVH	peri/intraventrikulární hemoragie
PN	parenterální nutrice
PVL	periventrikulární leukomalácie
RDS	syndrom dechové tísně novorozenců
ROC	<i>receiver operating characteristic</i>
ROP	retinopatie z nezralosti
SC	<i>sectio caesarea</i>
sFGR/FGR	selektivní /fetální růstová restrikce
SIRS	<i>systemic inflammatory response syndrome</i>
TAPS	<i>twin anemia–polycythemia sequence</i>
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TIMP	tkáňový inhibitor metaloproteináz
TNF	<i>tumor necrosis factor</i>
TTTS	<i>twin to twin transfusion syndrome</i>
UPV	umělá plicní ventilace
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VON	<i>Vermont Oxford Network</i>