

Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta



AUTOREFERÁT 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

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova

Obor: Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Otomar Kittnar, CSc., MBA

Školící pracoviště: Ústav pro péči o matku a dítě - Neonatologie

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

Obsah	1
Abstrakt	2
Abstract	4
1. Úvod	6
2. Cíle práce	8
3. Metody	9
3.1 Charakteristika souboru	9
3.2 Sérové hladiny IL-6	9
3.3 Definice proměnných	10
3.4 Statistická analýza	12
4. Výsledky	13
4.1 Časná a pozdní systémová zánětová odpověď	13
4.2 Dynamika časně systémové zánětové odpovědi	14
4.3 Logistická regrese	15
4.4 ROC křivky a mezní hodnoty	18
5. Diskuze	19
6. Závěr	26
7. Literatura	27
8. Seznam zkratk	32
9. Přehled publikací autora	33

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

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 poškození 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 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 klinickém výzkumu a hodnocení vývoje pacientů, nepostihuje kompletní

spektrum tíže onemocnění (tzv. „super-těžké“ formy) 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 onemocnění ⁶.

Záněť je silně asociovaná s rozvojem BPD/CLD a představuje důležitý rizikový faktor prenatálně, perinatálně i postnatálně ⁷. Definice systémového zánětu u novorozenců je ovšem 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 prozánětlivé i protizánětlivé působící cytokiny, ať už samostatně nebo v kombinaci ⁸.

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 tkáně ⁹. Zvýšené sérové koncentrace jsou spojeny se systémovým zánětem u dospělých¹⁰, dětských¹¹ a novorozeneckých¹² pacientů. IL-6 hraje důležitou roli v počátečním stádiu zánětu a lze jej použít jako časný marker vývoje sepse, nástroj pro hodnocení závažnosti sepse ¹³ a dokonce jako vodítko pro účinnost léčby antibiotiky ¹⁴ u dospělých pacientů. Kombinace zvýšených sérových hladin IL-6 a CRP je využívána v rutinní časně diagnostice vývoje pozdní novorozenecké sepse ¹⁵.

V současnosti nejsou k dispozici spolehlivé a běžně dostupné biologické markery predikující rozvoj BPD/CLD obecně, případně rozvoj středně těžké a těžké formy onemocnění ¹⁶. Systémová

záněťová odpověď u velmi nezralých novorozenců vyjádřená sérovou hladinou IL-6 by mohla být součástí modelů predikujících rozvoj CLD.

2. Cíle práce

Cílem práce je analýza role systémového zánětu vyjádřeného sérovou hladinou IL-6 v časně predikci CLD a stanovení klíčových rizikových faktorů rozvoje onemocnění ve věku 24 hodin a 14 dnů po narození ve studované populaci.

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

C. Systémová záněťová 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 defínována 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 defínována 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 ruthenioým komplexem a mikročastic potažených streptavidinem, tvoří protilátky s antigeny vzorku sendvičový komplex s antigenem vzorku. Reakční směs je nasáta do měřicí komory, kde jsou mikročástice 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.

3.3 Definice proměnných

Bronchopulmonální dysplázie/chronická plicní nemoc novorozenců (BPD/CLD) byla definována dle aktuální mezinárodní konsenzuální definice. Vzhledem k minimálním dlouhodobým následkům mírné formy ⁶ nebyli tito pacienti hodnoceni jako součást skupiny pacientů s CLD. Růstová restrikce plodu bylo diagnostikována prenatalně pomocí 2D sonografie a dopplerovských měření (obvod břicha, odhadovaná hmotnost plodu, end-diastolické proudění v *arteria umbilicalis* a *arteria uterina*)¹⁷. Postnatálně byla diagnóza verifikována porodní hmotností pod 10. percentil pomocí růstových

grafů dle Fentonové ¹⁸. Definice časně novorozenecké sepse (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 sepse (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) ^{19, 20}. 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 ²¹. Druhou byla metodika INSURE (*INtubation-SURfactant-Extubation*) s extubací pacienta do 30.minut po podání surfaktantu ²¹.

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), periventrikulární leukomalácie (PVL), nekrotizující enterokolitida (NEC) a retinopatie z nezralosti (ROP) byli definovány podle *Vermont Oxford Network* ²².

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

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 nespĺnilo, včetně 74 pacientů s mírnou formou.

4.1 Časná a pozdní systémová záněťová 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 seps) 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.

4.2 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 časné 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 kúry, nebo těžké poruchy adaptace neměli statisticky významný vliv na dynamiku časné systémové zánětlivé odpovědi. Při porovnání difference u UPV, včetně nekonvenční, časné sepse, hypotenze a terapie surfaktantem mezi skupinami rozdělenými podle CLD nebyl detekován statisticky významný rozdíl.

4.3 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 1**. 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.

Tab. 1. 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

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, časně sepsy a časně 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, monochorionicita při vícečetném těhotenství a fetální růstová restrikce. Přehled druhého modelu je v **Tabulce 2**. 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.

Tab. 2. 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

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 časně 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 3**. 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.

Tab. 3. 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

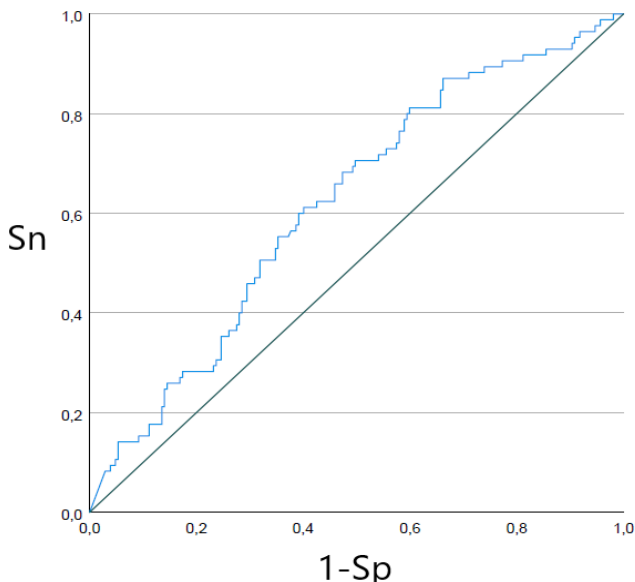
4.4 ROC křivky a mezní hodnoty

ROC křivky pro diagnostiku CLD pomocí sérových hladin IL-6 byly konstruovány jako standardní nástroj pro vizualizaci výstupu testů. ROC křivka pro časnou vrcholovou hodnotu (**Obr. 1**) 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 časné 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. 1 ROC křivka časné vrcholové hodnoty IL-6

(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 následků²³. 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)²⁴. Pro ilustraci incidence CLD u přeživších nezralých porozených pod 24.týden těhotenství je uváděna v rozmezí 73-85 %²⁵. 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 \leq 24.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) ²⁵. 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 klasické ²⁴.

5.1 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 CLD ²⁶.

Analogicky časná novorozenecká sepse/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 13,5/1000 ²⁷. Nicméně incidence vysoce suspektních časných infekcí bez pozitivní hemokultury je přibližně desetinásobná ²⁸. 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 ^{29, 30}.

Pozdní systémový zánět a pozdní infekce

Systémová 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 významný¹⁵.

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 nemění²¹. 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 sepsé/infekce je prokazatelně asociována se zvýšeným rizikem rozvoje CLD a riziko vzrůstá s počtem infekčních epizod během hospitalizace po narození¹¹⁷. 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 práci³². Hlavní příčinou zvýšení rizika rozvoje CLD u pacientů s pozdní sepsí/infekcí je však pravděpodobně především nutnost expozice umělé plicní ventilaci³³.

Pneumonie

Pneumonie byla ve studované populaci definována závěrem na základě radiologického a klinického obrazu dle *Vermont Oxford Network*²². Incidence odpovídá literárně uváděným hodnotám³⁴. Relativní riziko rozvoje CLD u pacientů s pneumonií bylo 3,11 (95 % CI 2,3-4,3). Systémová zánětová odpověď u velmi nezralých novorozenců s pneumonií vyjádřená sérovou hladinou IL-6

nedosahuje středních hodnot srovnatelných s LOS nebo NEC ¹⁵. Tyto výsledky naznačují význam lokálního perzistujícího zánětu.

5.2 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 ³⁵.

5.3 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) vede 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 nemoci 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 narození³⁶. Praktické použití je podobně limitované jako u modelů konstruovaných v rámci této výzkumné práce.

5.4 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, monochorioncita, UPV) je možné takovéto pacienty spíše nezařazovat do intervenčních studií zaměřených na prevenci rozvoje CLD.

5.5 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 problematickou³⁷. 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 respiratortherapy 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. Ryan R, Ahmed Q, Lakshminrusimha S. Inflammatory Mediators in the Immunobiology of Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007; 34(2):174-190.
8. 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.

9. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014; 6, a016295
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Tsalik E, Jaggars B, Glickman SW, et al. Discriminative value of inflammatory biomarkers for suspected sepsis. *J Emerg Med.* 2012; 43:97-106.
14. 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.
15. 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.

16. Lal C, Ambalavanan N. Cellular and humoral biomarkers of Bronchopulmonary Dysplasia. *Early Hum Dev.* 2017; 105:35–39.
17. Gordijn SJ, Beune IM, Thilaganathan B, et al. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016; 48: 333-339.
18. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* 2013; 13: 59.
19. Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF et al. Early-onset neonatal sepsis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2014; 27:21–47.
20. 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.
21. 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.
22. Horbar JD. The Vermont Oxford Network: evidence-based quality improvement for neonatology. *Pediatrics.* 1999; 103: 350-359.
23. Onland W, Offringa M, van Kaam A. Late (>7 days) inhalation corticosteroids to reduce bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2012.
24. 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.

25. 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.
26. 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.
27. Flannery DD, Edwards EM, Puopolo KM, et al. Early Onset Sepsis Among Very Preterm Infants. *Pediatrics*. 2021; 148(4):e2021052456
28. Cantey JB, Baird SD. Ending the Culture of Culture-Negative Sepsis in the Neonatal ICU. *Pediatrics*. 2017; 140(4):e20170044.
29. Trembath A, Laughon M. Predictors of Bronchopulmonary Dysplasia. *Clin Perinatol*. 2012; 39(3):585-601.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.

34. 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.

35. 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.

36. 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.

37. Wynn JL, Polin RA. Progress in the management of neonatal sepsis: the importance of a consensus definition. *Pediatr Res.* 2018; 83:13–5.

Seznam zkratek

AUC	<i>area under the curve</i>
BPD	bronchopulmonální dysplazie
CLD	chronická plicní nemoc novorozenců
CRP	C-reaktivní protein
EOS	<i>early onset sepsis</i>
FGR	fetální růstová restrikce
IL	interleukin
INSURE	<i>INtubation-SURfactant-Extubation</i>
LISA	<i>less invasive surfactant administration</i>
LOS	<i>late onset sepsis</i>
NEC	nekrotizující enterokolitida
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
UPV	umělá plicní ventilace

Přehled publikací

A. **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. (IF 3.15)

B. Semberova, J., Sirc, J., Miletin, J., Kucera, J., **Berka, I.**, Sebkova, S., O'Sullivan, S., Franklin, O. and Stranak, Z. (2017). Spontaneous Closure of Patent Ductus Arteriosus in Infants ≤ 1500 g. *Pediatrics*, 140(2), p.e20164258. (IF 4.86)

C. 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 May 28:8830738211016239. doi: 10.1177/08830738211016239. Epub ahead of print. PMID: 34048279. (IF 1.99)

Mixa, V., Nedomova, B. and **Berka, I.** (2015). Continuous epidural analgesia, a new prospect in analgesia of newborns. *Bratislava Medical Journal*, 116(09), pp.571-573. (IF 0.454)

Sandri, F., Plavka, R., Ancora, G., Simeoni, U., Stranak, Z., Martinelli, S., Mosca, F., Nona, J., Thomson, M., Verder, H., Fabbri,

L. and Halliday, H. (2010). Prophylactic or Early Selective Surfactant Combined With nCPAP in Very Preterm Infants. *Pediatrics*, 125(6), pp.e1402-e1409. (Sub-Investigator CURPAP study) (IF 5.83)

Miletin J, **Berka I**, Janota J, Burianova I, Stranak Z (2008): Computerized calculation of total parenteral nutrition for preterm neonates: preventing errors in user-friendly environment. 2nd Congress of the European Academy of Paediatrics, Nice, France. *Arch Dis Child*. 93: 55pw (IF 2.83)

Straňák Z., **Berka I**, Širc J., Urbánek J., Feyereisl J., Korček P. Role of umbilical interleukin-6, procalcitonin and C-reactive protein measurement in the diagnosis of fetal inflammatory response syndrome. *Ceska Gynekol.* 2021;86(2):80-85. English. doi: 10.48095/cccg202180. PMID: 34020553.

Berka, I., 2019. Porod zralého a hraničně nezralého novorozence plánovaným císařským řezem z pohledu akutní neonatální medicíny. *Pediatric pro praxi*. 20(4), 210-213. ISSN 1213-0494.

Berka, I., Berková, K., 2019. Management bolesti a diskomfortu u nezralého novorozence. *Postgraduální medicína* 21(5), 412-416. ISSN 1212-4184.

Berka I., Šebková S., Feyereislová S., Ščamburová J., Hašlík L., Straňák Z. (2017). Anestezie a analgezie plodu při intervencích in utero. *Anest. intensiv. Med.* Vol. 28, 2017, Issue 5, p 275-281

Mixa, V., **Berka I.**, Rygl, M. (2014). Kontinuální kaudální epidurální analgezie extrémně nedonošeného dítěte- kazuistika. *Anaesthesiology & Intensive Medicine / Anesteziologie a Intenzivní Medicina.* 2014, Vol. 25 Issue 3, p190-193.4p.

Melichar J., **Berka I.**, Kucera J., Stranak Z. Interdisciplinální aspekty neonatálního resuscitačního programu. *Postgraduální medicína*, 1, 2007

Acidobazická rovnováha – poruchy u novorozenců

Kapitola 3, STRAŇÁK, Zbyněk, JANOTA, Jan. *Neonatologie. Mladá fronta*, 2015. ISBN 978-80-204-3861-4

Opioidy ve fetální a neonatální medicíně
Kapitola 27, KOZÁK, Jiří, LEJČKO, Jan a VRBA, Ivan. *Opioidy. Mladá fronta*, 2018. ISBN 978-80-204-4550-6.