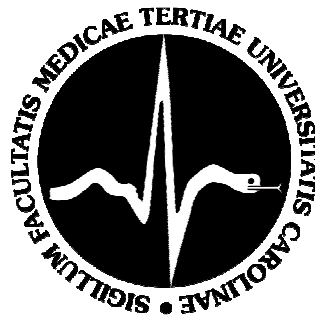


Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Disertační práce



**Dopplerovské parametry myokardiální dysfunkce u
novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti**

MUDr. Jan Širc

Praha, 2015

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor

Fyziologie a patofyziologie člověka

Předseda oborové rady

prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště

Ústav pro péči o matku a dítě, Praha

Autor

MUDr. Jan Širc

Školitel

doc. MUDr. Zbyněk Straňák, CSc., MBA

Oponenti

prof. MUDr. Richard Plavka, CSc

doc. MUDr. Jan Janota, Ph.D

Obhajoba disertační práce dne 24. září 2015

Obsah

Seznam zkratek	3
Abstrakt	5
Abstract	6
1. Úvod	8
2. Přehled současných poznatků	8
2.1. Fyziologie a patofyziologie kardiovaskulárního systému novorozence	9
2.1.1. Postnatální změny cirkulace	9
2.1.2. Tepenná dučej	9
2.1.3. Nezralý myokard	10
2.2. Echokardiografie	11
2.2.1. Základní principy echokardiografie	11
2.2.2. Systolická funkce levé komory	12
2.2.3. Diastolická funkce levé komory	13
2.2.4. Systolicko/diastolická funkce levé komory – Myocardial performance index (MPI, Tei index)	15
2.2.5. Funkce pravé komory	16
2.2.6. Tkáňový Doppler – Tissue Doppler imaging (TDI)	16
2.2.7. Otevřená tepenná dučej (patent ductus arteriosus, PDA)	17
2.2.8. Síňové zkraty	22
2.2.9. Stanovení tlaku v plicním řečišti	23
2.2.10. Srdeční výdej	24
2.2.10.1. Levostranný srdeční výdej (LVO)	24
2.2.10.2. Pravostranný srdeční výdej (RVO)	25
2.2.10.3. Měření průtoku v horní duté žíle (SVC flow)	26
2.3. Near infrared spectroscopy	27
2.3.1. Měření fyziologických proměnných NIRS metodou	29
2.4. Biochemické markery myokardiální dysfunkce	29
3. Hypotézy	30
4. Cíle	30
5. Materiál, metodika, výsledky a diskuze k jednotlivým studiím	30
5.1. Změny diastolické funkce komor během prvních 48 hodin po porodu u novorozenců s porodní váhou pod 1250 gramů	31
5.2. Oxygenační index mozkové tkáně, srdeční výdej a návrat horní dutou žílou u novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů v prvních 48 hodinách	41
5.3. Možnosti N-terminal pro-brain natriuretického peptidu v predikci signifikantní otevřené tepenné dučeje u nedonošených novorozenců po prvním týdnu života	47
5.4. Současné možnosti biochemické analýzy myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců	56
6. Souhrnná diskuze k publikacím	60
7. Závěry	62
8. Conclusions	62
9. Použitá literatura	63
10. Publikace autora	74

Seznam zkratk

AIM	akutní infarkt myokardu
ASD	Defekt síňového septa, atrial septal defect
AFF	Frakce síňového plnění, atrial filling fraction
Avmax	Maximální rychlost vlny A
A-VTI	Plocha pod křivkou vlny A
BNP	Brain natriuretický peptid
cFTOE	Extrakce kyslíku z mozkové tkáně, cerebral fraction tissue oxygen extraction
CK	Kreatinkináza
CK-MB	MB frakce kreatinkinázy
cTNI	Srdeční troponin I
cTNT	Srdeční troponin T
cTOI	Oxygenační index mozkové tkáně, cerebral tissue oxygenation index
CW Doppler	Kontinuální Dopplerovské vyšetření
Cyt aa3	Oxidovaná cytochrom oxidáza
ECLIA	Elektrochemiluminiscenční imunoassay
EF	Ejekční frakce
Evmax	Maximální rychlost vlny E
E-FABP	Epidermal – type fatty acid-binding protein
ET	Ejekční čas
E-VTI	Plocha pod křivkou vlny E
FS	Frakční zkrácení
HbO2	Oxygenovaný hemoglobin
HbR	Deoxyhemoglobin
FOA	Foramen ovale
HR	Srdeční akce, heart rate
H-FABP	Heart – type fatty acid-binding protein
ICT	Izovolumický kontrakční čas
IMA	Ischémií modifikovaný albumin
IRT	Izovolumický relaxační čas
IVH	Intraventrikulární/periventrikulární krvácení mozkové krvácení
IVRT	Izovolumický relaxační čas
I-FABP	Intestinal-type fatty acid-binding protein
LA/Ao	Poměr velikosti levé síně k průměru aorty
LPA	Levá větev plicnice
LVEDD	rozměr levé komory na konci diastoly
LVESD	rozměr levé komory na konci systoly
LVET	Ejekční čas levé komory
LVO	Srdeční výdej levé komory, left ventricular output
MAP	Střední tlak v dýchacích cestách, mean airway pressure
MPA	Kmen plicní arterie, mean pulmonary artery
MPI	Myocardial performance index
mVcFs	Střední hodnota obvodového zkrácení, mean velocity of circumferential fractional shortening
NIRS	Near infrared spectroscopy
NPR	Receptor natriuretického proteinu, natriuretic peptide receptor
NT-proBNP	N-terminal pro brain natriuretický protein
PDA	Otevřená tepenná dučej, patent ductus arteriosus
proBNP	Pro-brain natriuretický peptid

PVL	Periventrikulární leukomalácie
PW Doppler	Pulzatilní Dopplerovské vyšetření
RDS	Respiratory distress syndrom
RVO	Srdeční výdej pravé komory, right ventricular output
SVC	Horní dutá žíla
SVC flow	Návrat horní dutou žílou
TDI	Tkáňové Dopplerovské vyšetření, Tissue Doppler imaging
TOI	Tkáňový oxigenační index, tissue oxygenation index
TVI	Insuficience trikuspidální chlopně, tricuspid valve insufficiency
VTI	plocha pod křivkou, velocity time integral
WS	Wall stress

Abstrakt

Po narození prodělává oběhový systém nedonošeného novorozence výrazné hemodynamické změny. Důležitou roli v tomto období mají intrakardiální a extrakardiální zkraty, především tepenná dučeje. Při poruše adaptace a perzistenci otevřené tepenné dučeje (PDA) může dojít k oběhovému selhání s hypoperfúzí životně důležitých orgánů se závažnými důsledky pro krátkodobou i dlouhodobou morbiditu a mortalitu. Nejrizikovější skupinou jsou novorozenci velmi nízké porodní hmotnosti. Diagnostické možnosti oběhového selhání jsou limitovány specifikami těchto pacientů. Klinický stav novorozence a fyzikální vyšetření jsou velice nespecifické a subjektivní. Echokardiografie umožňuje vyšetření systolické i diastolické funkce srdce a měření oběhových parametrů včetně srdečního výdeje a návratu horní dutou žílou (SVC flow). Diagnostika i terapie se dosud soustředila na systolickou funkci, o diastolické funkci je informací méně. Near infrared spectroscopy (NIRS) je neinvazivní metoda umožňující měření oxygenace tkáně a umístěním sondy na hlavu lze měřit oxygenaci mozku. Další možností jsou biochemické markery, které jsou důležité v diagnostice srdečního selhání u dospělých pacientů. V novorozeneckém věku jejich význam stoupá.

Cílem naší první práce bylo popsat diastolickou funkci levé i pravé komory v prvních 48 hodinách po narození. Tato data dosud nikdo nepublikoval. Hodnoty po narození v porovnání s plody a donošenými novorozenci odpovídají dysfunkci myokardu. Během 48 hodin došlo k signifikantním změnám, které svědčí o progresivním zlepšení diastolické funkce komor. Zároveň významně stoupl srdeční výdej levé i pravé komory, pravděpodobně především díky zkratům v PDA a foramen ovale.

SVC flow, ukazatel průtoku horní částí těla a především mozku, během sledovaného období stoupal. 41% novorozenců mělo minimálně při jednom vyšetření nízkou hodnotu SVC flow, nejčastěji v 6. a 12. hodině. Vysoké procento nízkého SVC flow v porovnání s jinými studii odpovídá extrémně nízké průměrné porodní hmotnosti 850 gramů v naší skupině pacientů. Oxygenace mozku, udávaná jako cTOI, klesla ve 12. hodině a následně stoupla. Extrakce kyslíku z krve (cFTOE) sledovala opačný trend, s maximální hodnotou ve 12. hodině a poté klesla. Proti našemu očekávání nebyl nárůst SVC flow doprovázen vyššími hodnotami cTOI a v 6. hodině byla dokonce korelace negativní.

V další studii jsme zjišťovali vztah mezi NT-proBNP, biochemickým parametrem přetížení srdce, a velikostí otevřené tepenné dučeje u novorozenců s porodní hmotností pod 1500 gramů. Hodnoty NT-proBNP byly signifikantně vyšší u dětí s PDA v prvních 2 týdnech, ve 3. týdnu byl rozdíl signifikantní u dětí s velkým PDA (průměr nad 2 mm). Malý počet jedinců s PDA po 3. týdnu života byl pravděpodobně důvodem nesignifikantních rozdílů. NT-proBNP korelovalo s průměrem PDA a použití v diagnostice otevřené tepenné dučeje po prvním týdnu se zdá velice slibné.

Poslední práce je uceleným přehledem biochemických markerů použitelných v diagnostice dysfunkce myokardu u kriticky nemocných novorozenců.

Abstract

Preterm neonate is exposed to significant hemodynamic changes after delivery. Cardiac and extracardiac shunts, especially ductus arteriosus, play an important role in this process. Failure of postnatal adaptation and persistent patent ductus arteriosus (PDA) may lead to cardiac overload and circulatory failure with hypoperfusion of vital organs and in turn adversely affect the short-term and long-term morbidity and mortality of these patients. Newborns with very low birth weight are at highest risk, however the possibilities for diagnosing circulatory failure in this patient group are limited. Clinical presentation and physical examination are nonspecific and involve subjective measures. Functional echocardiography provides information on systolic and diastolic heart function as well as the possibility to measure cardiac output and superior vena cava flow (SVC flow). Much of what is known about ventricular function pertains to systole rather than diastole. Near infrared spectroscopy provides another noninvasive method, enabling the measurement of tissue oxygenation including that of the brain. Cerebral oxygenation can be measured by placing the probe on the head of the neonate. Further possibility to help diagnose circulatory system failure are biochemical markers, commonly used in diagnosing myocardial failure in adults. Their importance in neonatology is increasing.

The thesis comprises of four separate studies. Aim of the first study was to describe the diastolic function of the left and right ventricle during the first 48 hours of life. These data have not been published in existing literature. Values measured in the studied group of preterm newborns as compared to fetal measurements and measurements in term neonates are equivalent to values of impaired myocardial function. During the first 48 hours of life however, the values of ventricular function change significantly, representing a progressive improvement of the diastolic ventricular function.

In the second study, we have shown the changes that occur in cardiac output and superior vena cava flow and their relationship to cerebral tissue oxygenation as measured by near infrared spectroscopy. Both left and right cardiac output increased significantly during the study period. SVC flow, a parameter of perfusion of the upper half of the body, in particular of the brain, has also increased but the change was not statistically significant. 41% of studied neonates had low SVC flow during at least one of the performed measurements, mostly during the ones taken at 6 and 12 hours. The relatively high percentage of babies with low SVC flow compared to other published studies is explainable by the high number of neonates with extremely low birth weight in our group of patients (mean birth weight was 850 grams). Cerebral oxygenation, as represented by cerebral tissue oxygenation index (cTOI), decreased at 12 hours of life followed by an increase at 24 hours. This was accompanied by reciprocal changes in cerebral tissue oxygen extraction (cFTOE) with the maximum

value being reached at 12 hours and with decreasing values thereafter. On the contrary to our expectation, an increase of SVC flow was not accompanied by higher values of cTOI, moreover the correlation between SVC flow and cTOI was negative at 6 hours of age. Low cerebral oxygenation with higher value of oxygen extraction from blood is a known risk factor of hypoxic-reperfusion cerebral injury.

The third study investigated the correlation between NT-proBNP, a biochemical parameter of cardiac overload, and the size of patent ductus arteriosus in newborns with birth weight below 1500 grams. Measured values of NT-proBNP were significantly higher in neonates with PDA during the first two weeks of life. During the third week, the results were significantly different only in patients with PDA of more than 2mm in diameter. This may have been due to the very small proportion of patients with PDA after the third week of life. NT-proBNP value correlated well with the diameter of PDA and its use as a diagnostic tool for patent ductus arteriosus in newborns after the first week of life looks promising.

Last study aims to give a review of existing biochemical markers used to aid diagnosis of myocardial dysfunction in critically ill neonates.

1. Úvod

Předkládaná dizertační práce je souborem 4 publikací zaměřených na myokardiální dysfunkci u novorozenců s porodní hmotností pod 1500 gramů.

První dvě studie vycházejí z dat měřených u skupiny nedonošených novorozenců v prvních 48 hodinách po narození. V první studii popisujeme výsledky měření diastolické funkce komor pomocí vtokových parametrů. Ve druhé studii jsme popsali změny srdečního výdeje levé a pravé komory a návratu horní dutou žílou v porovnání s oxygenací mozku pomocí near infrared spektroskopie.

Tématem třetí publikace je otevřená tepenná dučej, další možná příčina srdečního selhání u novorozenců, a jeho diagnostika pomocí NT-proBNP u novorozenců velmi nízké porodní hmotností po prvním týdnu od narození. Čtvrtá publikace je přehledový článek o možnostech biochemické diagnostiky myokardiální dysfunkce u novorozenců.

2. Přehled současných poznatků

Navzdory rychlému rozvoji novorozenecké intenzivní medicíny jsou novorozenci velmi nízké porodní hmotnosti (pod 1500 gramů) nadále ohroženi krátkodobou i dlouhodobou morbiditou a mortalitou. Přibližně 30% těchto novorozenců je oběhově nestabilních s následnou hypoperfúzí a ischémii životně důležitých orgánů (1). Nejzávažnějším následkem hypoperfúze mozku je periventrikulární/intraventrikulární krvácení a periventrikulární leukomalácie. Mezi hlavní příčiny oběhové nestability patří infekce, krvácení, myokardiální dysfunkce, intrakardiální zkraty - otevřená tepenná dučej a foramen ovale, hemodynamické změny po porodu a iatrogenní faktory. Diagnostika a terapie oběhového selhání je ovlivněna specifikami nedonošených novorozenců (velikost, vysoká vulnerabilita, etické problémy) a polymorbiditou (respiratory distress syndrom, infekce, vrozené vady atd.). Hlavní funkcí kardiovaskulárního systému je zajištění dostatečné perfúze tkání za přijatelného krevního tlaku. Podmínkou je dostatečný srdeční výdej, který je distribuován do tkání a funkční mikrocirkulace.

Diagnostické možnosti oběhového selhání novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti jsou omezené. Klinický stav pacienta a fyzikální vyšetření jsou nespecifické a subjektivní. Ze zobrazovacích metod má největší význam echokardiografie. Další možností je měření biochemických markerů oběhového selhání a stanovení tkáňové perfúze, které mohou pomoci jak v diagnostice samotné myokardiální dysfunkce, tak ischemie tkání.

2.1. Fyziologie a patofyziologie kardiovaskulárního systému novorozence

2.1.1. Postnatální změny cirkulace

Po narození dochází u novorozence k výrazným oběhovým změnám. Po odpojení placenty z krevního oběhu stoupá systémová vaskulární rezistence. Zároveň s prvními nádechy novorozence klesá plicní vaskulární rezistence. Tok krve v arteriálním duktu se mění z fetálního pravo-levého na bidirekční a dále na levo-pravý. Snížení plicní vaskulární rezistence a levo-pravý zkrat v PDA zvýší preload levého srdce. Změny tlaku mezi levou a pravou síní vedou k uzávěru foramen ovale. S probíhajícími změnami se stává dominantní levá komora oproti prenatálně dominantní pravé komoře.

2.1.2. Tepenná dučej

Tepenná Botallova dučej (patent ductus arteriosus - PDA) je nezbytná pro fungující cirkulaci plodu. PDA se u donošených novorozenců uzavírá do 48 hodin po narození. Nejprve dochází k funkčnímu zužení PDA při kontrakci hladkého svalstva a v druhé fázi k anatomické remodelaci, ztluštění intimy a postupné ztrátě tunica muscularis.

Mechanismus uzávěru PDA je poměrně dobře popsán. V pozdějších fázích gestace je tonus tepenné dučeje závislý především na vazodilatačním efektu PGE_2 .

První fáze - po narození je první fáze uzávěru dučeje závislá na:

1. Zvýšení parciálního tlaku kyslíku PO_2 . To způsobí vápníkem indukovanou konstriktci třemi způsoby – otevření Ca^{++} kanálů hladkého svalstva, zvýšení Ca^{++} senzitivace mediovanou Rho kinázou a inhibicí draslíkových kanálů hladkého svalstva.
2. Snížení intraluminálního tlaku díky postnatálnímu poklesu plicní vaskulární rezistence.
3. Snížení cirkulujícího PGE_2 . Roli hraje ztráta produkce placentou a zvýšená degradace v plicích novorozence.
4. Snížení PGE_2 receptorů ve stěně duktu.

Druhá fáze - anatomický uzávěr je závislý na tkáňové hypoxii stěny duktu (131). Při funkčním uzávěru dojde k obliteraci intramurálních cév - vasa vasorum, zásobujících zevní půlku stěny cév. Hypoxie snižuje produkci PGE_2 a oxidu dusnatého a zvyšuje produkci hypoxií-inducibilních faktorů HIF-1 α a vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). VEGF indukuje migraci buněk hladkého svalstva do neointimy a apoptózu v tunica media. Dále hrají roli v remodelaci duktu buňky monocyto-makrofágového systému adheující na jeho stěnu (132).

U nedonošených novorozenců se duktus uzavírá pomaleji a incidence PDA je nepřímou úměrnou gestačnímu stáří. Důvodem je nízký tonus nezralého duktu způsobený nižší aktivitou a expresí Rho kinázy, vyšší zastoupení nezralých izoform myosinu které mají nižší kontraktlní schopnosti, nižší vstup kalciových iontů L-typem kalciových kanálů a vyšší zastoupení K_{Ca} draslíkových kanálů (které nejsou regulovány PO_2) oproti K_v kanálům. Hlavním důvodem poruchy uzávěru duktu u nezralých novorozenců je zvýšená senzitivita k vazodilatačním faktorům PGE_2 a NO (133). Nezralí novorozenci

mají také sníženou degradaci PGE₂ v plicích a hladina PGE₂ se zvyšuje při sepsi a nekrotizující enterokolitidě (134).

Otevřená tepenná dučej může způsobit objemové přetížení srdce, edém plic a hypoperfúzi především dolní části těla (11). PDA je asociována s celou řadou komorbidit jako je plicní apoplexie, nekrotizující enterokolitida, intraventrikulární krvácení, periventrikulární leukomalácie nebo ledvinné selhání. Kauzální vztah však nebyl prokázán (12). Diagnostika se opírá o echokardiografii a klinické známky PDA, nezastupitelnou roli hrají biochemické markery, především NT-proBNP. Informace o vztahu PDA a NT-proBNP jsou však limitovány na první týden života (4,13). Terapie PDA je konzervativní, farmakologická nebo chirurgická. Konzervativní terapie je omezena na restrikcii tekutin a úpravu ventilačního režimu. K farmakologické léčbě se používají inhibitory prostaglandinů indomethacin a ibuprofen, nověji paracetamol, o kterém je ovšem nedostatek evidence – based dat. Účinek farmakologického uzávěru klesá se stářím novorozence. Podstatou chirurgické léčby u novorozenců je ligace PDA thorakotomicky. Od váhy 3-4 kg je možný katetrizační uzávěr.

Paradoxně však uzávěr PDA nevede ke zlepšení vývoje u novorozenců a observační postup v managementu PDA je možnou variantou (14).

2.1.3. Nezralý myokard

Fyziologické tlakové a objemové změny po porodu kompenzuje myokard hyperplazií myocytů, především levé komory a roli hraje růstový faktor aFGF a TGF. Pozdější změny v nárůstu svalové hmoty jsou způsobeny hypertrofií kardiomyocytů (135). Postnatální hypertrofie je stimulována zátěží komor, růstovými faktory a katecholaminy (136).

Kardiomyocyt novorozence se strukturálně liší od zralého myocytu tvarem, nižší denzitou myofibril, které jsou uložené více periferně, má méně mitochondrií, sarkomery jsou méně organizované a v nezralém myokardu je nižší denzita kapilár (137). Sarkolema a sarkoplazmatické retikulum obsahuje méně vápníkových kanálů, které mají sníženou aktivitu oproti zralému kardiomyocytu a rychleji se deaktivují (138). Myokard novorozence je tedy více závislý na extracelulárním influxu vápníkových iontů což může omezovat kontraktilitu.

Nezralý myokard má vyšší obsah extracelulární matrix, kolagenu a vyšší zastoupení kolagenu typu I (74). Výsledkem je nižší compliance. Myokard novorozence má nižší schopnost zvýšit kontraktilitu (139) a je velmi citlivý na zvýšení afterloadu (140). Nejasný vliv na srdeční funkci má vyšší obsah vody v tkáních novorozence včetně myokardu.

2.2. Echokardiografie

2.2.1. Základní principy echokardiografie

Ve výzkumu i intenzivní medicíně dospělých se používá řada méně či více invazivních metod k měření hemodynamiky. Patří mezi ně termodiluce, analýza křivky krevního tlaku, elektrická bioimpedance nebo elektrická kardiometrie. Žádná z těchto metod není použitelná u nezralých novorozenců kvůli jejich velikosti, invazivitě a specifickým postnatálním oběhovým změnám. Echokardiografie je vůči pacientovi šetrná metoda použitelná u lůžka bez nutnosti transportu. Přináší informace o struktuře a funkci myokardu.

Základní principy

Sonda ultrazvukového přístroje se skládá z mnoha měničů, které generují vlnění na základě piezoelektrické jevu. Vlnění o vlnové délce 3-12 MHz je emitováno několik milisekund, poté se měnič stává detektorem a zachycuje odražené vlnění. Vlnění se částečně odráží od rozhraní s rozdílnou akustickou impedancí. Rychlost pohybu vlnění v tkáních je 1540 m/s a dle doby, která uplyne od vyslání signálu do detekce, lze určit v jaké hloubce došlo k odrazu. S rostoucí frekvencí vln stoupá rozlišení obrazu ale klesá průnik do hloubky. V medicíně se používá řada metod ultrazvukového zobrazení:

A-mode – jednorozměrné zobrazení, jde o signál z jednoho měniče. Jednotlivé odrazy jsou zobrazeny jako impulzy na časové ose. V ultrazvukovém zobrazení srdce se nepoužívá.

M-mode – jednorozměrné zobrazení pohybu struktur v průběhu času. V kardiologii se používá především pro stanovení velikosti srdečních komor a dynamické změny komor a chlopní.

B-mode – složením signálů z mnoha měničů jedné sondy získáme 2D obraz.

Dopplerovské vyšetření - funkční vyšetření je většinou založené na principu Dopplerova jevu. Podle tohoto principu se frekvence odražených vln mění podle rychlosti pohybu částic, od kterých se odráží.

Pro vlnovou délku detekovaného vlnění platí:

$$\lambda = \lambda_0 \pm v_{zdr}/f_0$$

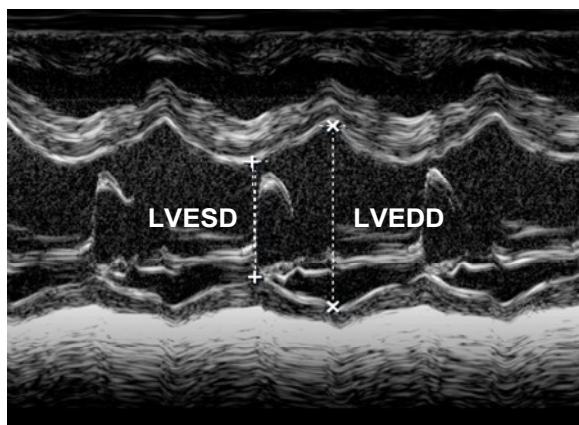
kde λ_0 je vlnová délka vlnění opouštějící zdroj, znaménko + nebo – směr pohybu zdroje odrazu oproti detektoru, v_{zdr} je rychlost zdroje odrazu a f_0 je původní frekvence vlnění. Pohyb může být vyjádřen barvou. Červená barva zobrazuje směr pohybu k sondě, modrá od sondy. U kontinuální Dopplerovské metody (CW Doppler) je signál neustále jedním piezoelektrickým krystalem vysílán a druhým přijímán. Umožňuje měření vysokých rychlostí. U pulzní Dopplerovské metody (PW Doppler) se vysílá i přijímá signál jedním krystalem. Frekvence vysílání pulzů je omezena dobou potřebnou k návratu odraženého signálu. Maximální měřitelná rychlost pohybu tkáně je tedy u PW metody nižší oproti CW metodě, ale výhodou je možnost měření v jasně definované hloubce.

Speckle tracking – při průchodu vlnění tkáněmi dochází také k rozptylu. Při interferenci jednotlivých vln dochází ke vzniku artefaktů, které mají charakteristický vzor. Analýzou pohybu těchto artefaktů může být vypočítána míra pohybu, jeho rychlost, deformace – strain a rychlost deformace – strain rate. Speckle tracking nevyužívá Dopplerova jevu a není tedy závislý na insonačním úhlu.

2.2.2. Systolická funkce levé komory

Frakční zkrácení (FS): nejčastěji používaný parametr měření kontraktility myokardu. Měření musí být prováděno ve standardní a reprodukovatelné pozici (75), viz obr.1. Nevýhodou parametru je závislost na preloadu a afterloadu. Vysoký preload nadhodnocuje kontraktilitu měřenou pomocí FS, vysoký afterload ji podhodnocuje (76). V novorozeneckém věku dochází často ke zvýšení preloadu při perzistující otevřené tepenné dučejí. Další nepřesnost v měření vzniká při plicní hypertenzi s dilatací pravé komory a atypickým pohybu septa komor, časté situaci u kriticky nemocných novorozenců (77).

Projekce	Dlouhá parasternální osa a/nebo krátká osa na úrovni cípů mitrální chlopně
Metodika měření	V M-mode s paprskem kolmým na komorové septum v dlouhé ose a/nebo uprostřed levé komory v krátké ose
Výpočet parametru	$FS = [(LVEDD - LVESD) / LVEDD] \times 100$
Normální hodnoty	Donošení novorozenci: 25-41% Nedonošení novorozenci: 23-40%



Obrázek č.1: Měření frakčního zkrácení – projekce v dlouhé parasternální ose na úrovni cípů mitrální chlopně, záznam v M-mode

LVEDD – rozměr levé komory na konci diastoly, *LVESD* – rozměr levé komory na konci systoly

Mean velocity of circumferential fiber shortening (mVCFs): oproti FS méně závislé na nepravidelném tvaru komory a abnormálnímu pohybu komorového septa (např. plicní hypertenzi). Tento parametr je také závislý na preloadu a afterloadu. Vliv srdeční akce lze omezit vydělením LVET čtvercem doby R-R intervalu.

Projekce	Dlouhá parasternální osa a/nebo krátká osa na úrovni cípů mitrální chlopně
Metodika měření	M-Mode kolmý ke komorovému septu v dlouhé ose, uprostřed levé komory v krátké ose
Výpočet parametru	mVCFs = mean [(LVEDD-LVESD)/LVEDD] x LVET ev. mVCFs = mean [(LVEDD-LVESD)/LVEDD] x (LVET/R-R int ²)
Normální hodnoty	1,46-1,54 circum/s 0,91-1,05 circum/s pro korekci srdeční akce

Ejektční frakce (EF): velmi často používaný parametr v kardiologii, který je náročný na přesnost měření. U velkého srdce dospělého jedince jsou případné chyby měření zanedbatelné, u novorozenců však mohou být signifikantní. Změny ve tvaru komory také ovlivňují výsledek. V novorozeneckém věku se tedy preferuje měření FS a mVCFs (78).

Projekce	Dlouhá parasternální osa
Metodika měření	M-Mode kolmý ke komorovému septu
Výpočet parametru	$EF = [(LVEDD^3 - LVESD^3) / LVEDD^3] \times 100\%$
Normální hodnoty	50-75%

2.2.3. Diastolická funkce levé komory

Výkonnost srdeční komory závisí na její schopnosti cyklovat mezi dvěma stavy: (1) poddajná komora, která umožňuje snadné plnění při nízkém tlaku v síni a (2) tuhé komoře (rychle stoupající tlak) během systoly, která vytlačí krev pod arteriálním tlakem. Tohoto stavu je docíleno cyklickými interakcemi myofilament a předpokládá dobře fungující chlopně. Diastola začíná při uzavření aortální chlopně a skládá se z poklesu tlaku v komoře, rychlém plnění, diastázy a sekundárním plnění při kontrakci síní. Cyklické interakce myofilament vedou ke kontrakci a relaxaci (79).

Relaxace je stav, kdy se myokard vrací po kontrakci do své klidové délky a síly. U zdravého srdce je relaxace téměř ukončena při poklesu tlaku v komoře na minimum. Relaxace je závislá na preloadu, afterloadu, inaktivaci a asynchronii. Vysoký afterload a preload oddalují relaxaci. Během inaktivace dochází k poklesu koncentrace kalcia v cytosolu a prodlužování myofilament. Malé časové rozdíly počátku kontrakce a relaxace v jednotlivých segmentech myokardu jsou fyziologické. Při dyssynchronii jsou rozdíly natolik významné, že negativně ovlivní globální relaxaci komory (79).

Plnění komory je závislé na plnicím tlaku a schopnosti myokardu se naplnit. Schopnost myokardu se naplnit se vyjadřuje jako tuhost ($\Delta P / \Delta V$) a nebo obráceně jako poddajnost – compliance ($\Delta V / \Delta P$). Plnění komory ovlivňuje mnoho vnějších a vnitřních faktorů. Vnějšími faktory jsou interakce mezi komorami, vlastnosti perikardu a umělá plicní ventilace. Mezi vnitřní faktory patří myokardiální

tuhost (kardiomyocyty a extracelulární matrix), myokardiální tonus, geometrie a tloušťka stěny komory (79).

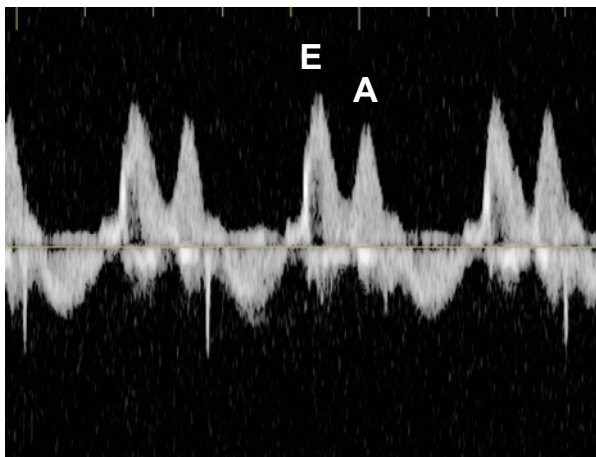
Měření plnění komor na úrovni atrioventrikulární chlopně pomocí pulzního Dopplerovského mapování je základním vyšetřením diastolické funkce a u novorozenců jediným relativně dobře popsaným (6-9,24). Referenční hodnoty pro novorozence velmi nízké porodní hmotnosti v kritickém období 48 hodin po narození ovšem chybí. Zároveň nemáme dostatek informací o diastolické funkci komor při patologických stavech (oběhové selhání, přetížení při perzistující otevřené tepenné dučejí, hypertrofická diabetická kardiomyopatie, kortikoidy a katecholaminy indukovaná kardiomyopatie atd). Poslední dobou se objevují publikace popisující diastolickou funkci pomocí metody tkáňového Doppleru (80,81), strain a strain rate (82,83) a speckle tracking (84,85).

Analýza plnění levé komory pomocí Dopplerovského měření. Měření se provádí v apikální čtyřřutinové projekci pulzním Dopplerem na úrovni cípů mitrální chlopně s velikostí vzorkovacího okna 1-3 mm. Záznam se skládá ze 2 vln – tzv. časné plnění (vlna E, early wave) a pozdní plnění při kontrakci síně (vlna A, atrial wave) (obr. 3). Hodnotí se maximální rychlosti vln, plochy pod křivkou (velocity time integral), poměry rychlostí a ploch a časové intervaly. Použití této metody je omezené při tachykardii, kdy dochází ke splývání vln. Pokud se vlny E a A překrývají, ale je možné identifikovat sestupnou část E vlny, je tato část při analýze extrapolována rovnou linií pokračující ve stejném úhlu jako vizualizovaná část vlny (7,8). Časové intervaly se vzhledem k vysoké srdeční akci měří nejlépe při maximální rychlosti záznamu.

U plodů a nedonošených dětí je dominantní vlna A. S přibývajícím věkem se stává dominantní vlna E a roste poměr E:A. V dospělosti se zhoršující se relaxací komory klesá vlna E a stává se dominantní opět vlna A. U dospělých jedinců je při počínající diastolické dysfunkci primárně postižena relaxace s poklesem vlny E a mírným vzestupem vlny A. Při progresi dysfunkce se zvyšuje preload, který způsobí větší plnění v časné fázi diastoly a dominanci vlny E. Stav se nazývá pseudonormalizace a představuje středně závažnou diastolickou dysfunkci. Prokáže se při Valsalvově manévru, kdy se při poklesu preloadu změní charakter křivky na křivku odpovídající mírné dysfunkci, tedy poruše relaxace (pokles E vlny a ev. vzestup vlny A). Těžká dysfunkce je charakterizována restriktivními průtoky a dominantní vlnou E (poměr E/A > 2). Toto hodnocení diastolické funkce se používá u dospělých pacientů. U novorozenců však pravděpodobně nemá význam, spíše nám může pomoci v porozumění závislosti mezi jednotlivými hemodynamickými parametry.

Riigs publikoval normativní data diastolických parametrů levé i pravé komory pro donošené novorozence (6). Schmitz popsal vývoj diastolických parametrů levé komory novorozenců, dětí a adolescentů (7) a u dětí s porodní váhou pod 1500 gramů (8) ale po kritickém období. Harada popsal diastolické parametry levé i pravé komory u plodu (9). Diastolické parametry levé a pravé komory v prvních 48 hodinách po porodu dosud nebyly u nezralých novorozenců publikovány.

Projekce	Čtyř-dutinová, měření pulzním Dopplerem na konci cípů mitrální chlopně
Metodika měření	Nejčastěji používaný parametr je poměr maximálních rychlostí vln E a A
Normální hodnoty	Donošení novorozenci: 1,1:1 (patologické hodnoty < 0,7:1) Nedonošení novorozenci: 1,0:1 (patologické hodnoty < 0,6:1)

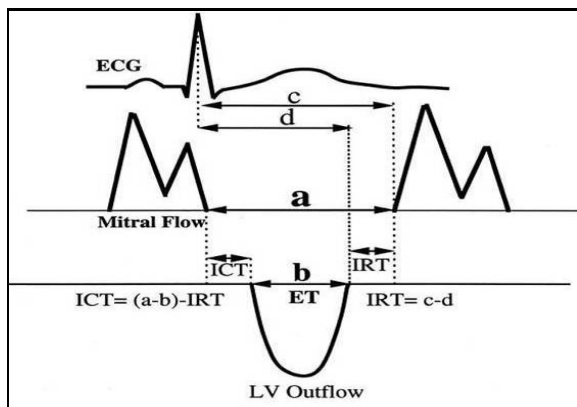


Obrázek č. 2: Analýza plnění levé komory pomocí Dopplerovského měření

2.2.4. Systolicko/diastolická funkce levé komory – Myocardial performance index (MPI, Tei index)

Ukazatel globální funkce komory (lze měřit levou i pravou komoru). Vychází z měření časových intervalů (obr. 3). Při systolicko-diastolické dysfunkci se prodlužuje izovolumický kontrakční a relaxační čas, zkracuje se ejekční čas a stoupá hodnota MPI.

Projekce	Modifikovaná čtyř-dutinová s nakloněním sondy směrem k výtokovému traktu komory
Metodika měření	Pulzní nebo kontinuální Doppler se záznamem plnění i výdeje komory
Výpočet parametru	$MPI = (ICT+IRT)/ET$
Normální hodnoty	0,25 – 0,38 (abnormální > 0,38)



Obrázek č. 3: Schéma měření systolicko-diastolické funkce komory
ICT = izovolumický kontrakční čas, IRT = izovolumický relaxační čas, ET = ejekční čas

2.2.5. Funkce pravé komory

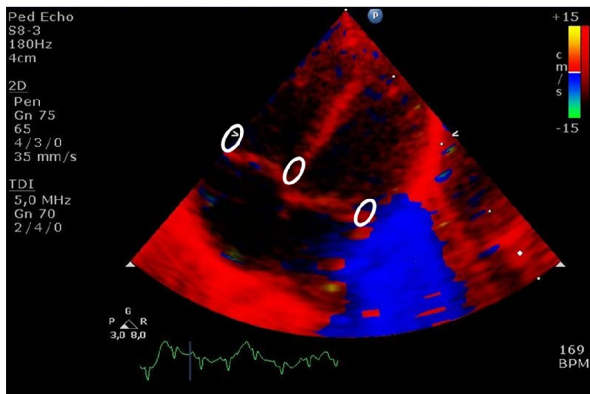
Vzhledem k nepravidelnosti tvaru a uložení pravé komory není v novorozenecké echokardiografii jednoduše použitelný parametr reprezentující její funkci kromě MPI. Projekce a měření viz měření MPI, normální hodnoty: 0,24-0,38. Diastolické vtokové parametry pravé komory byly publikovány u plodů a donošených novorozenců (6,9).

2.2.6. Tkáňový Doppler – Tissue Doppler imaging (TDI)

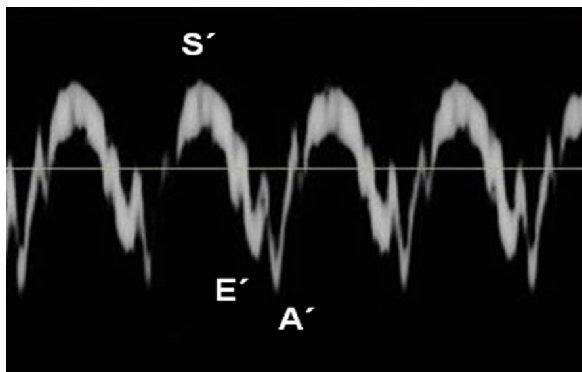
Specifické nastavení ultrazvukového přístroje na pomalé rychlosti s velkou intenzitou signálu umožňuje měřit rychlost pohybu myokardu – tzv. tkáňový Doppler. Podobně jako při měření toku krve, i u pohybu myokardu využíváme tzv. pulzní Doppler a barevné Dopplerovské mapování. V případě pohybu myokardu se metody nazývají tkáňový pulzní Doppler (spektrální Doppler nebo spektrální analýza) a barevný tkáňový Doppler. Získaná křivka je složena při jednom srdečním cyklu ze 3 vln. S' vlna představuje pohyb myokardu při systole, E' a A' vlna časné a pozdní plnění při diastole. Výhodou pulzního Doppleru je vyšší frame-rate a tedy rozlišení. Z barevného tkáňového Dopplerovského vyšetření můžeme měřit rychlost pohybu myokardu, tzv. displacement, strain a strain rate. Velkou výhodou je možnost post-processingu.

Metoda tkáňového Doppleru je ve srovnání s klasickým Dopplerovským měřením méně závislá na preloadu a afterloadu.

Projekce	Apikální čtyř-dutinová. Vzorkovací okno umístěné na bázi komorového septa, stěny levé a pravé komory (viz obr. č. 4)
Metodika měření	Maximální rychlosti vln S', E' a A' (viz. obr. č. 5), časové intervaly – IVC, IVR, MPI a další



Obrázek č. 4: Vzorkovací okna pro měření pomocí tkáňového Dopplera



Obrázek č. 5: Znáznornění vlny S', E' a A' při měření tkáňového Dopplera

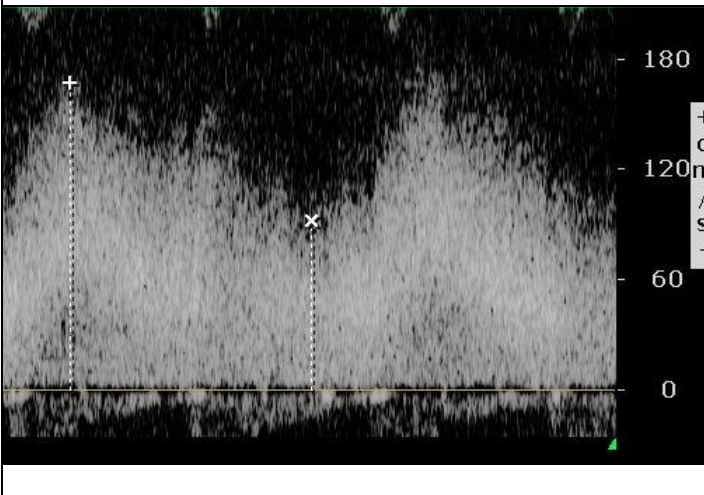
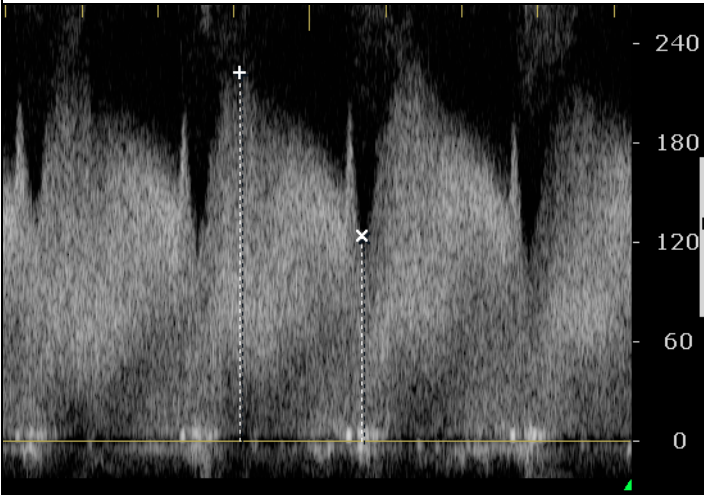
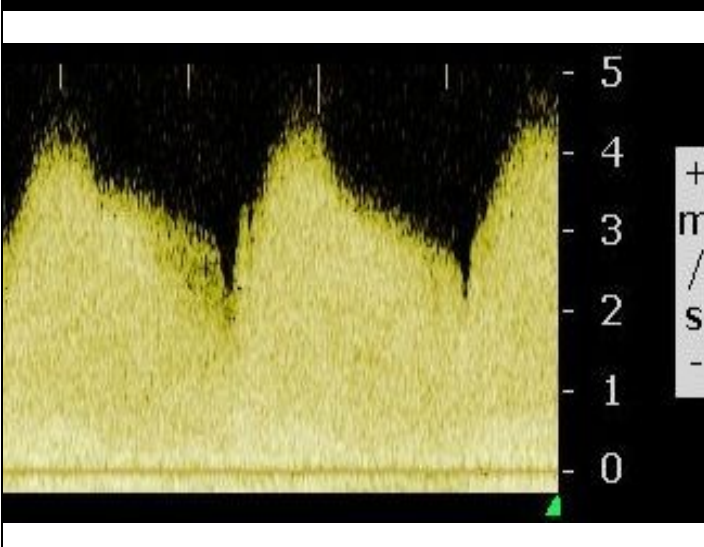
2.2.7. Otevřená tepenná dučej (patent ductus arteriosus, PDA)

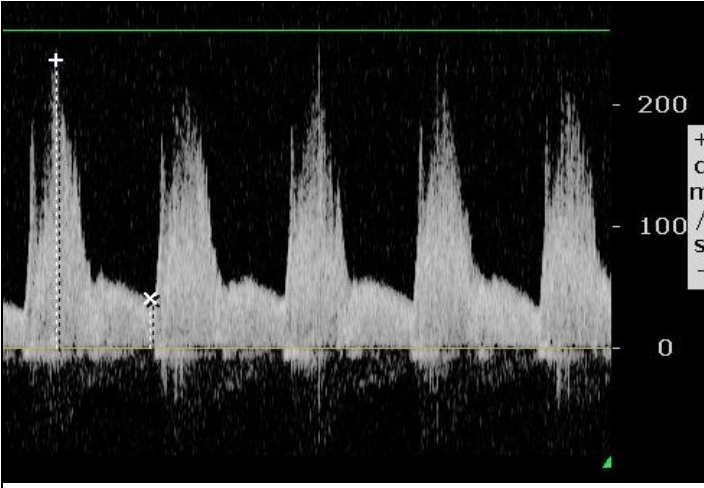
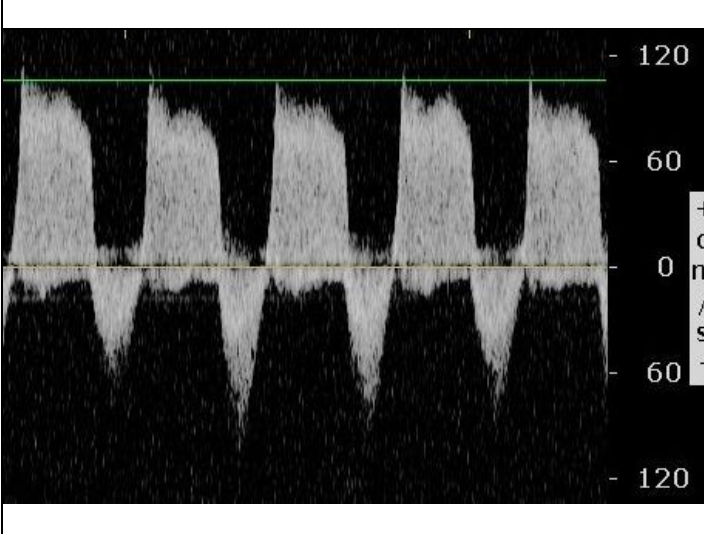
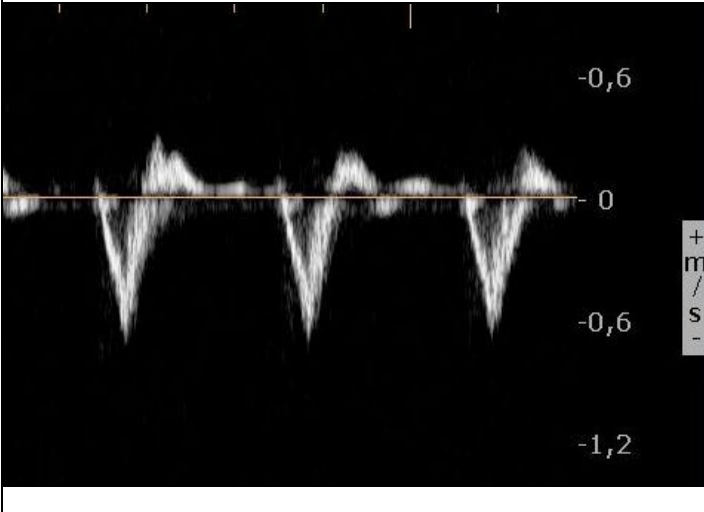
Při echokardiografickém stanovení hemodynamické významnosti otevřené tepenné dučeje (PDA) je nutné posoudit řadu anatomických a funkčních parametrů:

1. Průměr PDA

Projekce	<ul style="list-style-type: none"> • Suprasternální nebo parasternální krátká osa (tzv. ductal view). Bifurkace plicnice s pravou a levou větví a dučej směřující do aorty tvoří „trojnožku“. • Pro dobré zobrazení je vhodné kombinovat barevné Dopplerovské mapování s 2D režimem. • Ojedinele nelze PDA z výše uvedených projekcí zobrazit (děti s bronchopulmonální dysplázií, pneumothoraxem atd.) • Možnost použít subkostální projekci s výrazným nakloněním sondy.
Metodika měření	<ul style="list-style-type: none"> • Vnitřní průměr v nejužší části PDA (obvykle pulmonální konec nebo střed dučeje). Při měření v barevném mapování je nutné mít nastavený nízký barevný gain, jinak se naměří falešně vysoké hodnoty.
Klasifikace (pod 30. gest.týden)	<ul style="list-style-type: none"> • malá PDA < 1,5 mm • středně velká PDA 1,5 – 2,0 mm • velká PDA > 2 mm

2. *Charakter průtoku krve* – měříme pulzním nebo kontinuálním Dopplerem s pokud možno minimálním insonačním úhlem ze suprasternální nebo parasternální krátké osy (tzv. ductal view). Tvary křivek v jednotlivých klinických situacích viz. Tabulka č.1

Průtok v PDA	Charakteristika PDA
	Typický levo-pravý nerestriktivní zkrat
	Restriktivní levo-pravý zkrat
	Vysoce restriktivní zkrat u uzavírající se dučeje

	<p>Pulzatilní levo-pravý zkrat přes široce otevřenou dučej</p>
	<p>Bidirekční zkrat s arteriálním plicním tlakem na úrovni systémového tlaku</p>
	<p>Pravo-levý zkrat při plicní hypertenzi</p>

Tabulka č. 1: Charakter průtoku krve v ductus arteriosus

3. *Poměr velikosti levé síně k aortě – La/Ao.* Ukazatel levostranného objemového zatížení. Metoda má nízkou sensitivitu a specifitu, především v prvních 48 hodinách po narození. Je výrazně ovlivněna síňovými zkraty – velký levo-pravý zkrat vede ke zmenšení levé síně a snížení preloadu.

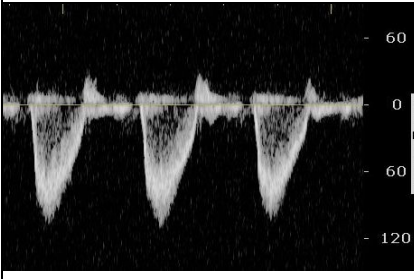
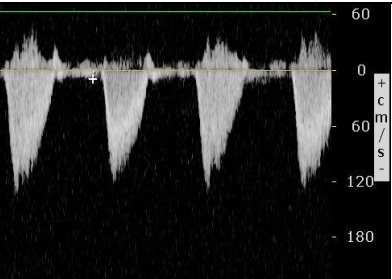
Projekce	dlouhá osa ve 3. - 4. mezižebří, vlevo od sternu
Metodika měření	M-mode, paprsek kolmý k aortě a procházející skrz cípy aortální chlopně. Průměr aorty je nutné měřit od začátku přední stěny k začátku zadní stěny (leading edge to leading edge) na konci systoly a maximální rozměr levé síně.
Výpočet parametru	Poměr LA/Ao
Klasifikace	<ul style="list-style-type: none"> • Malá PDA: < 1,4:1 • Středně velká PDA: 1,4:1 – 1,6 • Velká PDA: > 1,6

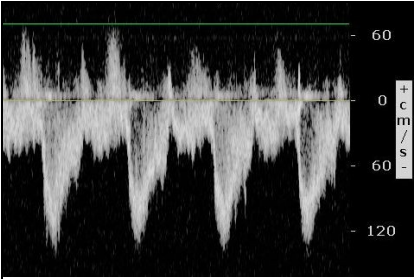
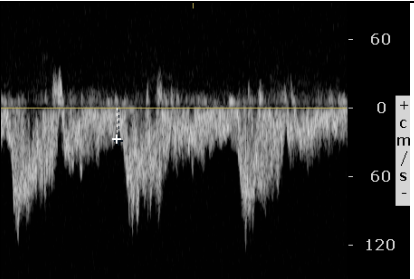
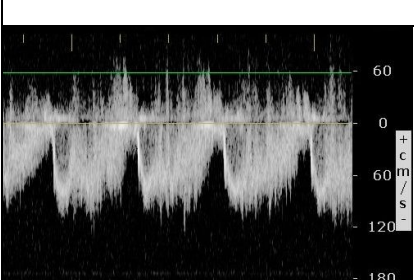
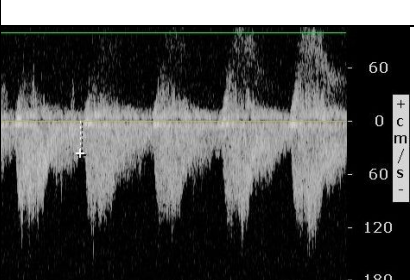
4. *Průtoky v plicnici.* Velký levo-pravý zkrat skrz PDA vede k turbulenci v plicnici, která je zobrazitelná pomocí pulzního Doppleru a/nebo v barevném Dopplerovském mapování.

Projekce	suprasternální krátká osa nebo parasternální projekce
Metodika měření	okno pulzního Doppleru umístit nad plicní chlopeň
Klasifikace	Viz. tabulka č. 2

5. *Diastolické toky ve větvích plicnice.* Při velkém levo-pravém zkratu se zvyšuje diastolický průtok ve větvích plicnice. Nejčastěji se měří průtok v levé plicnici.

Projekce	suprasternální nebo parasternální krátká osa
Metodika měření	pulzní Doppler, maximální rychlost na konci diastoly
Klasifikace	<ul style="list-style-type: none"> • Malá PDA: 0-20 cm/s • Středně velká PDA: 20-40 cm/s • Velká PDA: \geq 40 cm/s

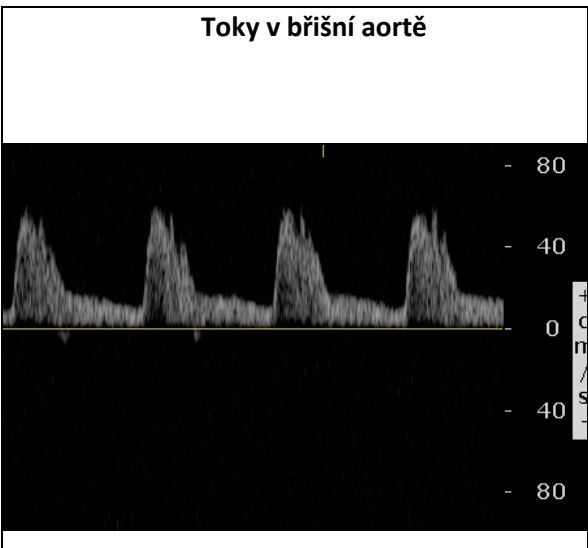
Toky v plicnici (MPA)	Toky v levé větvi plicnice (LPA)	Významnost PDA
		Hemodynamicky nevýznamná malá a/nebo uzavřená duče. Tok v plicnici lineární. Diastolický tok v LPA téměř nulový

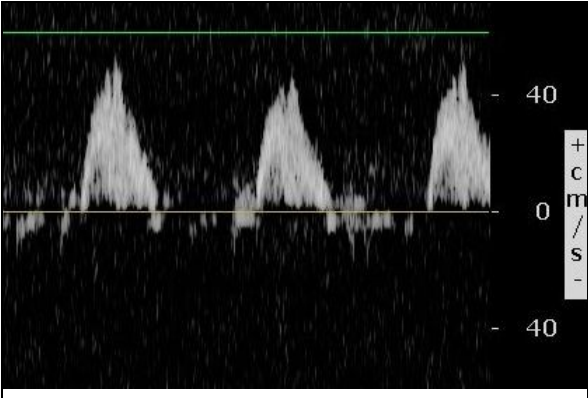
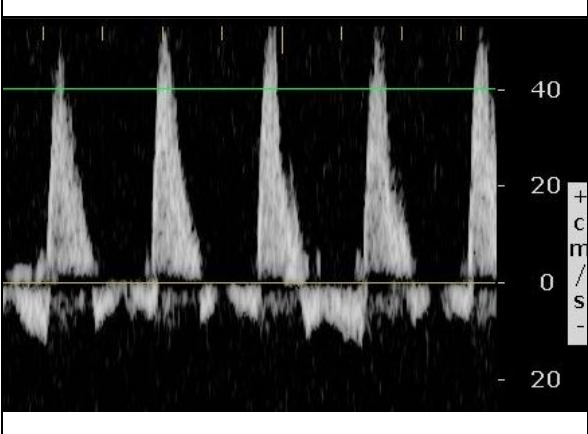
		Středně významná dučej. Lehce turbulentní toky v MPA. Rychlost toku v diastole levé plicnice 20-40 cm/s
		Velká hemodynamicky významná dučej. Vysoce turbulentní tok v MPA. Rychlost toku v diastole levé plicnice nad 40 cm/s

Tabulka č.2: Klasifikace významnosti PDA ve vztahu k průtokovým charakteristikám v plicnici a pravé plicnici.

6. Tok v břišní aortě na konci diastoly. Velký levo-pravý zkrat skrz PDA vede ke snížení, nulovým až reverzním (tzv. steal) tokům v diastole.

Projekce	subkostální s nakloněním sondy. Alternativně z levého boku přes retroperitoneum (eliminace ECHO stínů způsobených vzduchem v žaludku a střevech).
Metodika měření	pulzním Dopplerem uprostřed aorty na úrovni bránice
Klasifikace (viz. tabulka č. 3)	<ul style="list-style-type: none"> • Malá PDA: antegrádní průtok • Středně velká PDA: restriktivní a/nebo krátký retrográdní průtok • Velká PDA: holosystolický retrográdní průtok

Toky v břišní aortě	Významnost zkratu
	Malá hemodynamicky nevýznamná a/nebo uzavřená dučej

	Mírně hemodynamicky významná dučej
	Střední a/nebo velká hemodynamicky významná dučej

Tabulka č. 3: Klasifikace významnosti PDA ve vztahu k průtokovým charakteristikám v abdominální aortě.

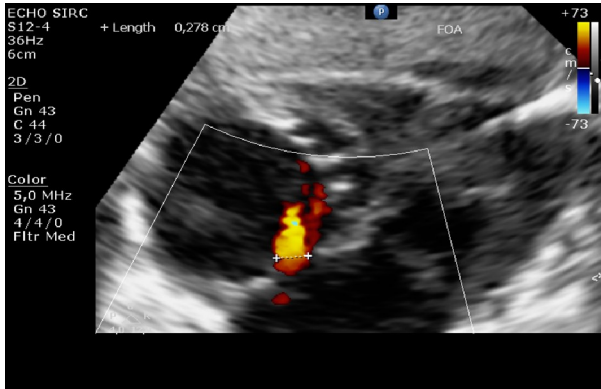
7. *Průtoky na mitrální chlopi.* Při objemovém přetížení levé komory může vznikat mitrální insuficience i u konstitučně dobře vytvořené chlopně. Insuficience je velmi často přítomna u dětí po prodělané hypoxii.

Projekce	Apikální čtyř-dutinová
Metodika měření	Z velikosti „jetu“ v barevném Dopplerovském mapování a/nebo pulzním Doppleru pod mitrální chlopní v místě největší insuficience
Klasifikace	Mitrální insuficience při PDA je téměř vždy známkou velkého a hemodynamicky významného zkratu

2.2.8. Síňové zkraty

Incidence síňových zkratů (foramen ovale apertum – FOA, defekt síňového septa – ASD) je u novorozenců velmi vysoká. Velký levo-pravý síňový zkrat zvyšuje pravostranný srdeční výdej a snižuje objemové zatížení levé síně a komory. Síňové zkraty detekujeme ze subkostální /subxifoidální projekce (krátké nebo dlouhé osy). Měříme přítomnost, velikost a směr toku. Barevné Dopplerovské

mapování je někdy nutné k identifikaci zkratu, který je za normálních okolností levo-pravý a/nebo bidirekční s pravo-levým zkratem do 30%. Při normální anatomii je pravo-levý zkrat známkou plicní hypertenze nebo hypertrofie pravé komory.



Obrázek č. 8: Měření síňových zkratů (barevné Dopplerovské mapování)

2.2.9. Stanovení tlaku v plicním řečišti

Nejčastěji se využívá měření pomocí trikuspidální regurgitace nebo charakteristiky průtoku krve v ductus arteriosus. Stanovení tlaku pomocí regurgitace plicní chlopně se používá méně často.

1. *Trikuspidální insuficience (TVI)*. Až 50% novorozenců nemá trikuspidální insuficienci i při zvýšené plicní vaskulární rezistenci. TVI diagnostikujeme ze čtyř-dutinové nebo dlouhé parasternální projekce s nakloněním měniče k trikuspidální chlopně. Měříme maximální rychlost/gradient trikuspidální regurgitace pomocí pulzního nebo kontinuálního Dopplerovského měření. Hodnota gradientu + 5 (tlak v pravé síni) odpovídá tlaku v plicním řečišti.

2. *Charakter toku krve v ductus arteriosus*. Z tzv. ductal view měříme pulzní nebo kontinuální Dopplerovské parametry. Bidirekční tok vypovídá o plicním tlaku na úrovni systémového. Při těžké plicní hypertenzi je tok pravo-levý (cave: v barevném Dopplerovském mapování lze pravo-levý tok snadno zaměnit za tok v levé větvi plicnice!).

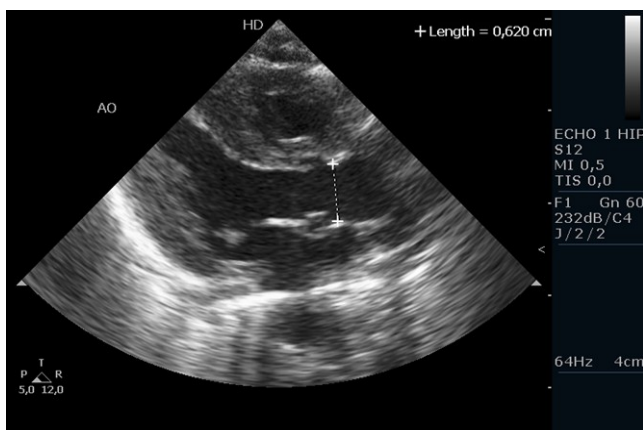
3. *Charakter toku krve v dalších srdečních zkratech*. Zkrat přes foramen ovale/defekt síňového septa vypovídá o tlakovém gradientu na úrovni síní. Při déle trvající plicní hypertenzi se přetížení pravé komory projeví ve zvýšeném tlaku v pravé síni a pravo-levém zkratu v síňových komunikacích. V přítomnosti komorového defektu lze o gradientu mezi komorami usuzovat z charakteru toku v tomto defektu.

2.2.10. Srdeční výdej

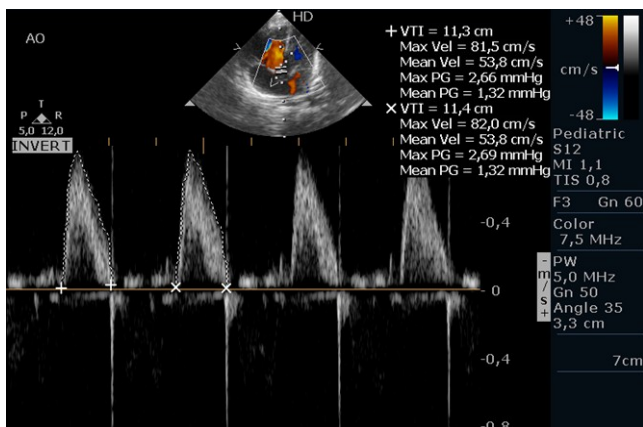
Při znalosti rychlosti toku můžeme poté pomocí Bernoulliho rovnice vypočítat průtok krve cévou, a tedy srdeční výdej. Levostranný (LVO) i pravostranný (RVO) srdeční výdej jsou důležité ukazatele systémového průtoku. U nezralých novorozenců však díky přítomnosti tepenné dučeje a foramen ovale srdeční výdej není roven množství krve, které protéká systémovým řečištěm. Měření srdečního návratu je méně závislé na těchto zkratech. Oba parametry stoupají po porodu. Hodnoty LVO i RVO jsou výrazně ovlivněné zkraty mezi systémovým a plicním řečištěm (LVO stoupá s narůstajícím zkratem přes PDA, RVO stoupá s velikostí síňových zkratů).

2.2.10.1 Levostranný srdeční výdej (LVO)

Projekce	Průměr aorty v dlouhé parasternální ose (obr. 9). Průtok ze čtyřdutinové projekce nakloněné směrem k aortě (tzv. pěti-dutinová projekce) nebo dlouhá osa posunutá směrem k hrotu. Další možností je suprasternální projekce. Vždy je nutné zobrazit ascendentní aortu pokud možno paralelně se sondou
Metodika měření	Kontinuální nebo pulzní Doppler se záznamem průtoku v místě měření průměru aorty
Výpočet parametru (ideálně průměr 5 měření)	$LVO = [\pi \times (d^2/4) \times VTI \times HR] / \text{váha}$ $D = \text{průměr}$, $VTI = \text{plocha pod křivkou} - \text{velocity time integral}$ (obr.10), $HR = \text{srdeční akce}$
Normální hodnoty	150-300 ml/kg/min



Obrázek č. 9: Měření průměru aorty z dlouhé parasternální projekce

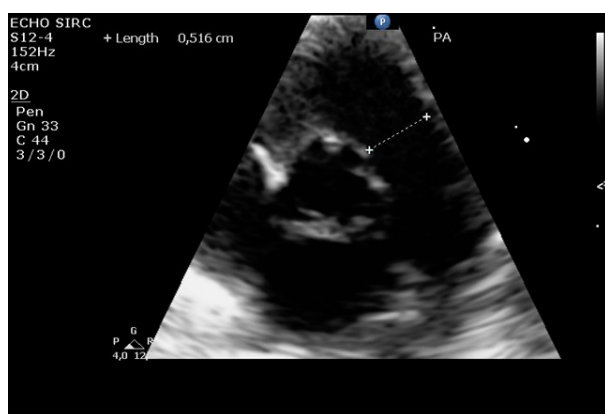


Obrázek č. 10: Měření plochy pod křivkou (velocity time integral, VTI)

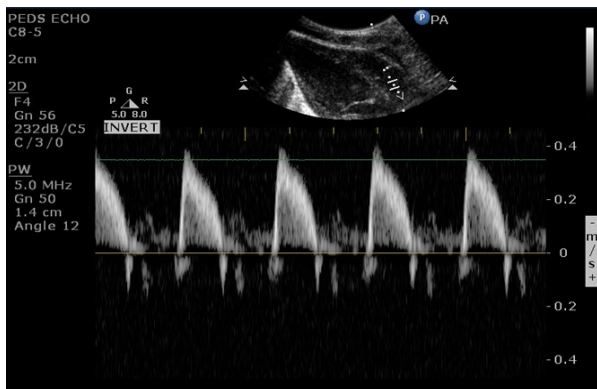
2.2.10.2. Pravostranný srdeční výdej (RVO)

V přítomnosti PDA a síňových zkratů reprezentuje lépe systémový krevní průtok než LVO.

Projekce	Nízká parasternální
Metodika měření	Vnitřní průměr mezi cípy plicní chlopně na konci systoly (obr. 11), průtok - pulzní Doppler nad plicní chlopní (obr. 12)
Výpočet parametru (ideálně průměr 5 měření)	$RVO = [\pi \times (d/2)^2 \times VTI \times HR] / \text{váha}$ $D = \text{průměr}$, $VTI = \text{plocha pod křivkou} - \text{velocity time integral}$ (obr.10), $HR = \text{srdeční akce}$
Normální hodnoty	150-300 ml/kg/min



Obrázek č. 11: Měření vnitřního průměru mezi cípy plicní chlopně na konci systoly



Obrázek č. 12: Měření průtoku nad plicní chlopní, stanovení VTI

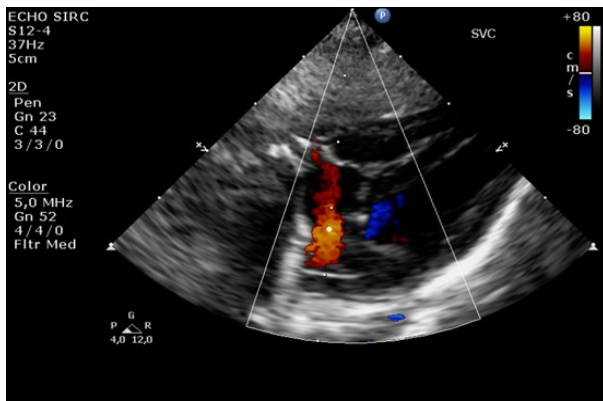
2.2.10.3. Měření průtoku v horní duté žíle (SVC flow)

Průtok horní dutou žílou (superior vena cava flow – SVC flow) není ve srovnání s LVO a RVO závislý na přítomnosti extrapulmonálních zkratů. Celkem 70-80% průtoku horní dutou žílou je krev vracející se z mozku. Nízký průtok v SVC (pod 41 ml/kg/min) je asociován s vyšším rizikem peri/intraventrikulárního krvácení (1,3).

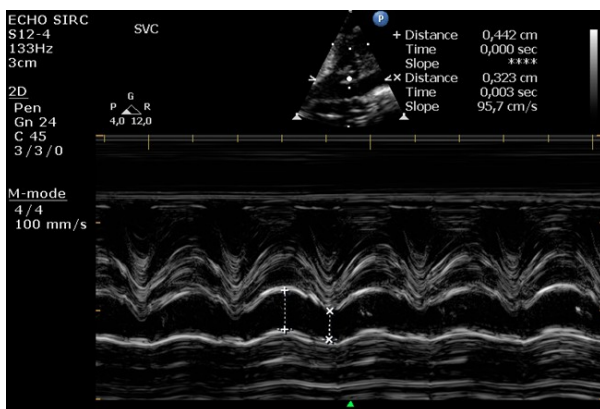
Projekce	Parasternální osa. Podélné zobrazení SVC při vstupu do pravé síně (obr.13). Průtok – subkostální projekce s nakloněním sondy směrem k břichu (obr.14)
Metodika měření	Průměr – průměrná hodnota z maximálního a minimálního průměru horní duté žíly před kónickým rozšířením žíly při vstupu do síně v M-mode režimu (obr.15) nebo ze smyčky 2D zobrazení. Průtok – měření pulzním Dopplerem. Tvar křivky je obvykle složen ze 3 vln – 2 pozitivních a jedné negativní. Negativní vlna však může chybět. (obr.16).
Výpočet parametru (ideálně průměr 5 měření)	$SVC\ flow = [\pi \times (d^2/4) \times VTI \times HR] / váha$ $D = \text{průměr}$, $VTI = \text{plocha pod křivkou} - \text{velocity time integral}$, $HR = \text{srdeční akce}$
Normální hodnoty	40-120 ml/kg/min



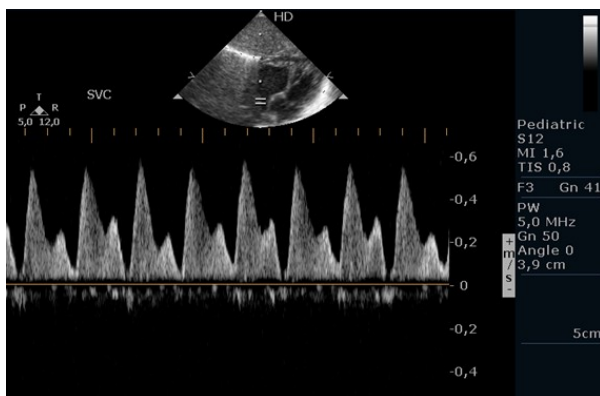
Obrázek č. 13: Podélné zobrazení horní duté žíly při vstupu do pravé síně



Obrázek č. 14: Měření průtoku SVC – subkostální projekce s nakloněním sondy směrem k břichu



Obrázek č. 15: Měření průměru SVC – průměrná hodnota z maximálního a minimálního průměru horní duté žíly před kónickým rozšířením žíly při vstupu do síně v M-mode režimu



Obrázek č. 16: Měření průtoku SVC pulzním Dopplerem. Tvar křivky je obvykle složen ze 3 vln (2 pozitivních a jedné negativní). Negativní vlna však může chybět.

2.3. Near infrared spectroscopy

Perfúze tkání je obtížně měřitelná in vivo u rizikových novorozenců. Z hlediska prognózy je hypoperfúze nejvíce ohrožen mozek. Near infrared spectroscopy (NIRS) je neinvazivní bed-side metoda kontinuálního sledování oxygenace a perfúze tkáně bez nežádoucích účinků. NIRS mozku

koreluje dobře s invazivně měřenou saturací ve venózním bulbu (86) a odpovídá dodávce kyslíku do mozku (87). První použití v medicíně bylo posáno v roce 1977 a u novorozenců v roce 1985 (88).

NIRS je založen na 3 základních principech:

1. Lidská tkáň je relativně transparentní pro světlo v blízkém infračerveném spektru.
2. Pigmentované komponenty neboli chromofory absorbují světlo při jejím průchodu tkání.
3. Absorpce některých chromoforů je závislá na jejich oxygenaci.

Nejdůležitější chromofory využívané v NIRS jsou oxygenovaný hemoglobin (HbO_2), deoxyhemoglobin (HbR) a oxidovaný cytochrom oxidáza (Cyt aa3). Jejich koncentrace v tkáni se mění dle oxygenace a metabolického stavu. Každý chromofor má maximální absorpci světla při určité vlnové délce pohybující se mezi 700-1000 nm, např. HbO_2 při 850 nm, HbR při 775 nm atd. To nám umožňuje rozlišit koncentraci jednotlivých komponent. Nejsilnější signál NIRS je z hemoglobinu, absorpce ostatními chromofory jako je karboxyhemoglobin může způsobit chybu v měření, která je ale menší než 1% (89).

Ve výzkumu se používají tři odlišné metody využívající NIRS ke stanovení oxygenace:

1. Continuous wave method
2. Time-of-flight method / time-domain nebo time-resolved
3. Frequency domain method

Continuous wave metoda

Změna koncentrace chromoforů se u této metody počítá pomocí modifikovaného Beer-Lambertova zákona. Podle tohoto zákona je zeslabení světla při průchodu látkou proporcionální koncentraci absorbující látky rozpuštěné v neabsorbujícím roztoku a délce optické dráhy. Ve skutečnosti je absorpce ovlivněna rozptylem světla ve tkáni a okolním světlem. Hlavní příčinou rozptylu světla v lidském těle jsou buněčné membrány, ze tkání je to u novorozenců kůže a kost pokud se nachází méně než 2,5 cm od zdroje světla (90). Proto byla zavedena konstanta K, udávající rozptyl v dané tkáni. K závisí na složení a geometrii tkání, její hodnota díky individuálním anatomickým rozdílům nemusí zcela odpovídat vyšetřované tkáni. Při konstantních hodnotách K můžeme posuzovat relativní změny v čase, absolutní hodnoty ovšem nezjistíme. To je zásadní nevýhoda této metody.

Spatially resolved spectroscopy

Tato metoda používá kontinuální metodu popsanou výše, ale pomocí více senzorů a detektoru umožňuje korekci délky dráhy a udává absolutní hodnotu. Výsledkem je saturace hemoglobinu kyslíkem ve vyšetřované tkáni – tissue oxygenation index (TOI), ev. cTOI pokud je měřena mozková tkáň. Představuje průměrnou hodnotu arteriální a venózní saturace, většina autorů používá poměr 25:75 (129,130) a je logicky individuální (91). Existuje několik výrobců přístrojů měřící TOI. Rozdíly hodnoty cTOI různých výrobců jsou mezi 10-15% a rozdíly jsou i mezi druhy sond – mezi dospělou, pediatrickou a novorozeneckou sondou (92). Rozdíly mezi levou a pravou fronto-parietální oblastí

jsou do 7% a závislé především na venózní saturaci kyslíkem (93). Průměrná hodnota cTOI pro donošené novorozence je $62 \pm 2\%$ (94). Sorensen (95) a další autoři (129,130) popsali hodnoty u nedonošených novorozenců, které se pohybují od 55% do 85% dle gestačního stáří, postnatálního stáří a klinického stavu.

Time-of-flight method

U této metody jsou emitovány krátké laserové pulzy a zaznamenáván čas dopadu světla. Přístroj dokáže odlišit absorpci světla od rozptylu a tím zobrazit rozdílné tkáně. Jeho použití je limitováno složitostí a nákladností. Výhodou je zobrazení struktury a funkce tkáně.

Frequency domain method

Metoda je založena na modulaci laseru při daných frekvencích. Použití v neonatologii zatím nebylo publikováno, ale díky malým rozměrům přístroje se dá očekávat velký rozvoj.

2.3.1. Měření fyziologických proměnných NIRS metodou

Při měření využívající continuous wave metodu není výsledkem absolutní hodnota, k měření je potřeba změnit koncentraci chromoforů – např. zvýšit objem venózní krve. Toho dosáhneme parciální venózní okluzí, změnou polohy hlavy vůči tělu nebo změnou žilního návratu pomocí ventilace. Takto můžeme měřit periferní nebo cerebrální venózní saturaci a perfúzi. Alternativní metodou měření perfúze je použití Fickova principu aplikací oxygenovaného hemoglobinu.

Při znalosti venózní a arteriální saturace (pulzní oxymetrií) lze vypočítat tzv. frakci extrakce kyslíku z krve – fractional oxygen extraction (FTOE). Mnoho autorů používá místo venózní saturace smíšenou saturaci – TOI s určitými limity. Změny cFTOE (FTOE mozkové tkáně) vypovídají o kyslíkových nárocích mozku a perfúzi. Naulaers popsal dobrou korelaci mezi cFTOE měřenou pomocí NIRS a cFTOE měřenou invazivně u zvířecího modelu.

2.4. Biochemické markery myokardiální dysfunkce

Biochemické markery mají nezastupitelnou roli v primární diagnostice akutního a chronického srdečního selhání u dospělých pacientů (15,16). U nedonošených novorozenců je málo informací o použití jednotlivých markerů, normálních a patologických hodnotách a senzitivě a specificitě jednotlivých vyšetření. Slibné je použití některých z nich v diagnostice otevřené tepenné dučeje. Detailní popis biochemických markerů myokardiální dysfunkce použitelných u novorozenců popisuje přehledový článek publikovaný níže.

3. Hypotézy

1. Předpokládáme, že diastolické parametry myokardu nedonošených novorozenců po porodu budou alterovány a jejich úprava spolu s postnatálními změnami cirkulace bude provázena zvýšením srdečního výdeje a návratu horní dutou žílou.
2. Domníváme se, že se zvýšením srdečního výdeje dojde k lepší perfúzi mozku a vyšší oxygenaci. U části rizikových pacientů mohou změny kardiovaskulárního systému spolu s dalšími patologickými mechanismy vést k hypoperfúzi a ischemii mozku.
3. Předpokládáme, že velikost otevřené tepenné dučeje u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti koreluje s hodnotou NT-proBNP. Novorozenci s vysokou hodnotou NT-proBNP mají hemodynamicky významnou otevřenou tepennou dučej a menší pravděpodobnost jejího spontánního uzávěru.
4. Biochemická diagnostika akutního i chronického selhání srdce je nezastupitelná u dospělých pacientů. Nedostatek informací o použití u nedonošených novorozenců limituje jejich aplikaci v neonatologii.

4. Cíle

- 4.1. Popis diastolických vtokových parametrů levé a pravé komory u novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů v kritickém období 48 hodin po porodu.
- 4.2. Popis změn echokardiograficky měřeného systémového průtoku a jeho vliv na oxygenaci mozku u novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů prvních 48 hod po porodu.
- 4.3. Popis vztahů mezi velikostí otevřené tepenné dučeje a NT-proBNP u novorozenců s porodní hmotností pod 1500 gramů od druhého týdne života do uzávěru dučeje nebo do propuštění z porodnice.
- 4.4. Popis možností biochemické diagnostiky dysfunkce myokardu u novorozenců.

5. Materiál, metodika, výsledky a diskuze k jednotlivým studiím

Metodika

Populace

Do prvních dvou studií bylo zařazeno 22 dětí s porodní hmotností pod 1250 gramů bez vrozených vad mimo otevřenou tepennou dučej a foramen ovale.

Do třetí studie bylo zařazeno 69 novorozenců s porodní váhou pod 1500 gramů, kteří při ultrazvukovém vyšetření srdce sedmý den života měli otevřenou tepennou dučej.

Echokardiografie

Ultrazvuková vyšetření se prováděla na přístroji Philips HD11 XE s novorozeneckými sondami s použitím 2D anatomickým zobrazením a barevného, pulzního a kontinuálního Dopplerovského mapování. Při prvním vyšetření byla vyloučena srdeční vada (mimo přítomnost PDA a foramen ovale). Při Dopplerovském vyšetření nebyla použita úhlová korekce a snahou echokardiografisty bylo zachovat směr pohybu krve pokud možno rovnoběžný ke směru paprsku sondy s maximální výchylkou do 20 stupňů. Při měření byly použity metody publikované v literatuře (7,17,18) a později v guidelines funkční echokardiografie (4). Data byla uložena a analyzována offline.

Near infrared spectroscopy

Pro měření byl použit přístroj NIRO-200 (NIRO-200, Hamamatsu Photonics, Hamamatsu City, Japan). Sonda byla umístěna vlevo fronto-parietálně na hlavu pokud možno pod vlasovou hranici a kryta strečovým obvazem (Coban™ 3M™) kvůli lepšímu přilnutí a ochraně před vnějším světlem. K analýze byla použita průměrná hodnota z 30 minut dlouhého úseku před echokardiografickým vyšetřením.

N-terminal pro-brain natriuretic peptide

Odběr krve na NT-proBNP byl proveden v den ultrazvukového vyšetření pokud možno s plánovanými odběry rutinně prováděnými v rámci standardní péče o rizikové novorozence. Měření bylo provedeno elektrochemiluminiscenční imunoassay (ECLIA) analyzátozem Cobas e411 (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany).

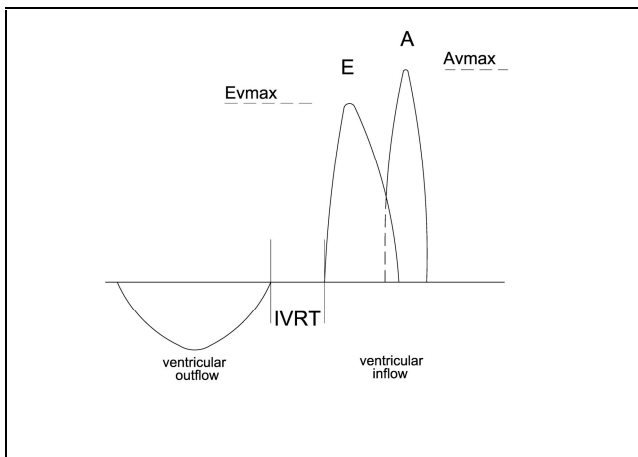
5.1. Změny diastolické funkce komor během prvních 48 hodin po porodu u novorozenců s porodní váhou pod 1250 gramů

Oběhové selhání s poruchou perfúze životně důležitých orgánů je častou komplikací u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti v časném postnatálním období s krátkodobou i dlouhodobou morbiditou a mortalitou (19). Jednou z možných příčin je myokardiální dysfunkce. Většina publikací věnující se této problematice popisuje systolickou funkci, o diastolické funkci srdce je nedostatek informací. Cílem práce je popis diastolických vtokových parametrů levé a pravé komory u novorozenců s porodní váhou pod 1250 gramů v kritickém období 48 hodin po porodu.

Metodika

Do studie byli zařazeni novorozenci s porodní hmotností pod 1250 gramů. Echokardiografické vyšetření bylo provedeno 6, 12, 24 a 48 hod po porodu bez sedace pacientů. Během prvního vyšetření byla vyloučena vrozená vada srdce (novorozenci s otevřenou tepennou dučejí a foramen ovale byli ve studii ponecháni). Součástí každého vyšetření byly diastolické parametry levé i pravé komory měřené pulzním Dopplerem nad cípy atrioventrikulárních chlopní. Jednalo se o maximální rychlosti vlny E a A (E_{max}, A_{max}) a plochy pod křivkou vlny E a A (E-VTI a A-VTI), frakci síňového plnění (atrial filling fraction - AFF) a akcelerační čas vlny E. Maximální rychlost je nejvyšší bod vlny,

akcelerační čas je interval mezi otevřením atrioventrikulární chlopně a E_{vmax} . Hranice plochy pod křivkou byla označena manuálně a automaticky vypočtena plocha (velocity time integral – VTI)(obr.17). Pokud se vlny E a A překrývaly, hranice sestupné části E vlny byla extrapolována rovnou linií pokračující ve stejném úhlu jako vizualizovaná část vlny (7,8). Kontinuálním Dopplerovským mapováním byl na rozhraní vtokové a výtokové části komor měřen izovolumický relaxační čas (čas mezi uzavřením aortální/pulmonální chlopně a otevřením mitrální/trikuspidální chlopně). Dále byl změřen srdeční výdej levé (LVO) a pravé (RVO) komory, průtok horní dutou žilou (SVC flow) a velikost PDA a FOA (17,18,50).



Obr.17 Schématické zobrazení vtokových a výtokových parametrů diastolické funkce. Popis viz text

Součástí klinických dat zaznamenaných před echokardiografickým vyšetřením byla ventilační a oběhová podpora a vyšetření krevních plynů.

Ke statistické analýze byl použit párový t-test a Pearsonův korelační koeficient ve statistickém softwaru StatsDirect verze 2.7.8. (StatsDirect Ltd, Altrincham, UK).

Výsledky

Celkem bylo do studie zařazeno 22 novorozenců s průměrným gestačním stářím 25,9 týdne a porodní hmotností 851 g. 4 novorozenci dostali volumoexpanzi v prvních 6 hodinách věku a 4 byli léčeni katecholaminy. 16 dětí bylo na umělé plicní ventilaci a 21 se dožilo do propuštění.

Diastolické parametry levé komory

Maximální rychlost vln E i E-VTI signifikantně stouply. A_{vmax} i A-VTI měli stoupající trend, ale rozdíly nebyly signifikantní. Podíl levé síně na plnění komory (AFF) klesl. Izovolumický relaxační čas klesl, jen rozdíl mezi 24. a 48. hodinou nebyl signifikantní.

Diastolické parametry pravé komory

Maximální hodnoty E i A vlny a plocha pod křivkou E vlny signifikantně stouply, A-VTI stouplo do 24. hodiny a následně kleslo. Podíl pravé síně na plnění komory (AFF) se neměnil. IVRT pravé komory během 48 hodin klesl.

Levý srdeční výdej po celé sledované období signifikantně stoupal, pravý jen do 24. hodiny, poté se neměnil. Návrat horní dutou žílou nesignifikantně stoupl a prvních 12 hodin koreloval s LVO a RVO.

Diskuze

Dle dostupných informací jsme jako první popsali diastolické vtokové parametry levé a pravé komory u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti v prvních 48 hodinách. Vstupní hodnoty levé komory v 6. hodině života odpovídají hodnotám u stejně starých plodů (9). Plody mají ovšem nízký preload levého srdce (20). Mezi preloadem a E_{vmax} je pravděpodobně přímý vztah (21-23). Postnatálně, při zvýšení preloadu bychom tedy předpokládali vyšší hodnoty E vlny. Hodnoty E_{vmax} jsou nízké i v porovnání s nedonošenými novorozenci 4. týden života (8). Velikost vlny A závisí na compliance komory a síňové kontrakci. Námi naměřené parametry vlny A, A_{vmax} a A-VTI jsou srovnatelné s hodnotami u donošených dětí první den života (70) a vyšší než u nedonošených novorozenců s otevřenou nebo uzavřenou PDA (8,24). Charakter změn E-VTI a A-VTI je podobný E_{vmax} a A_{vmax}. Vzhledem k vzestupu hodnot parametrů, poklesu izovolumického relaxačního času a poklesu AFF lze soudit na progresivní zlepšení diastolické funkce levé komory.

Parametry pravé komory vykazují podobné změny jako levé. E_{vmax} postupně stoupá a IVRT klesá. Oproti levé komoře výrazněji stoupá A_{vmax} a A-VTI, což se projevuje na stacionárních hodnotách AFF. V diastolické funkci pravé komory může hrát roli pomalý pokles plicní vaskulární rezistence spolu se zvýšením systémové rezistence. Více než polovina dětí byla při vyšetření na umělé plicní ventilaci. Nenašli jsme však vztah mezi mean airway pressure (MAP) a parametry diastolické funkce.

Popisovaný vztah mezi A_{vmax} a preloadem se v jednotlivých publikacích liší. Někteří autoři nepopisují změny A_{vmax} při kolísání preloadu (21-23), jiní při zvýšení preloadu popisují elevaci A_{vmax} i A-VTI (24). Změny A_{vmax} mitrální chlopně nebyly v naší kohortě pacientů signifikantní navzdory výraznému vzestupu levostranného srdečního výdeje, naopak A_{vmax} trikuspidální chlopně stouplo oproti menšímu zvýšení výdeje pravé komory v porovnání s výdejem levé komory. Změny A_{vmax} tedy podle nás reflektují diastolickou funkci komory a pozitivní korelaci preloadu s A_{vmax} a A-VTI nemůžeme potvrdit.

Isovolumický relaxační čas je citlivý indikátor poruchy relaxace (25). Shimizu (26) popsal závislost IVRT na afterloadu (pozitivní korelace) a srdeční frekvenci (negativní korelace), Harada (9) stoupající trend u plodů během těhotenství. V naší populaci se srdeční frekvence oproti IVRT neměnila a vliv afterloadu je méně pravděpodobný, protože IVRT levé komory klesá při vzestupu systémového krevního tlaku. Mauritz naopak u dospělých jedinců zdůvodňuje prodloužení IVRT pravé komory u

plicní hypertenze pokračováním kontrakce po uzavření plicní chlopně (postclosure isovolumic contraction) a ne poruchou diastolické funkce (27). Rozdílné chování komor v reakci na zvýšení afterloadu je ovšem nepravděpodobné. IVRT pravé komory je v naší kohortě ve všech měřeních vyšší než IVRT levé komory. Vysvětlením může být nižší preload pravé komory oproti levé (LVO je vždy vyšší než RVO).

REGULAR ARTICLE

Diastolic ventricular function improves during the first 48-hours-of-life in infants weighting <1250 g

J Sirc^{1,2,3}, E M Dempsey^{4,5}, J Miletin (miletinj@yahoo.com)^{1,2,6}

1.Department of Paediatric and Newborn Medicine, Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland
2.Neonatal Intensive Care Unit, Institute for the Care of Mother and Child, Prague, Czech Republic
3.Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic
4.Department of Neonatology, Cork University Maternity Hospital, Cork, Ireland
5.Department of Paediatrics and Child Health, University College Cork, Cork, Ireland
6.Department of Paediatrics, UCD School of Medicine and Medical Sciences, Dublin, Ireland

Keywords

Diastolic function, Functional echocardiography, Haemodynamic adaptation, Preterm neonate, Very low birth weight

Correspondence

Dr Jan Miletin, MD, FRCPI, FJFICM, Department of Neonatology, Coombe Women and Infants University Hospital, Cork Street, Dublin 8, Ireland.
Tel: +353 1 4085654 |
Fax: +353 1 4085743 |
Email: miletinj@yahoo.com

Received

12 April 2014; revised 15 August 2014; accepted 20 August 2014.

DOI:10.1111/apa.12788

ABSTRACT

Aim: Few studies have focused on cardiac ventricular diastolic function in preterm neonates in the immediate post-natal period. This study evaluated Doppler-derived parameters of diastolic ventricular function in infants with birth weights of <1250 g during the transitional period.

Methods: This was a prospective observational study conducted in the Coombe Women and Infants University Hospital in Dublin, Ireland. Flow patterns on the mitral and tricuspid valve, isovolumic relaxation time (IVRT), left and right ventricular output and superior vena cava flow were measured in 22 infants with a birth weight of below 1250 g at six, 12, 24 and 48 h of age.

Results: Early filling peak velocity of the left and right ventricle increased significantly from 30.3 to 39.5 cm/sec and 26.6 to 32.1 cm/sec, respectively. IVRT of the right ventricle decreased from 70 to 57 ms, and there was a nonsignificant decrease in IVRT of the left ventricle from 61.6 to 54 ms over the first 48 h.

Conclusion: We have demonstrated that parameters of diastolic ventricular function change significantly over the first 48 h of life in preterm infants <1250 g and that these changes may represent early diastolic dysfunction during the transitional period.

INTRODUCTION

Cardiovascular compromise is one of the most common complications in very low birth weight infants during the immediate transitional period of adaptation (1). They often have to cope with significant changes in cardiac preload and afterload, and the myocardium may have limited the ability to maintain sufficient cardiac output. Low cardiac output resulting in low systemic blood flow is associated with increased risk of periventricular/intraventricular haemorrhage (1), mortality and impaired neurodevelopmental outcome (2–4). Much of what is known about ventricular function in the neonate pertains to systole rather than diastole.

Diastolic function is an active process, and compromise can have similar effects on cardiac output as that seen with altered systolic function. Myocardial diastolic properties are age dependent, and the maturational process is continuous, from foetal life through to adulthood (5–7). The foetal and neonatal heart has a relatively high content of total collagen, especially collagen type I, which is related to the rigidity of the heart muscle. Endomyocardial collagen type I is negatively correlated with gestational age and thus provides the basis for the less compliant

ventricle seen in immature and premature neonates (8). Few studies addressing diastolic function have been performed in neonates, particularly the preterm infant, during the transitional period, and as such, normative values are lacking (6,9,10).

Diastole can be divided into four phases, as shown in Figure 1: isovolumic relaxation time (IVRT) (closure of the aortic valve to opening of the mitral valve), rapid

Key notes

- Few studies have focused on cardiac ventricular diastolic function in preterm neonates in the immediate post-natal period, and this study concentrated on measurements of diastolic function in 22 infants with birth weights of below 1250 g.
- We demonstrated that parameters of diastolic ventricular function changed significantly during the first 48 h of life.
- Further studies are required to evaluate targeted approaches to improve the relaxation properties of the both ventricles.

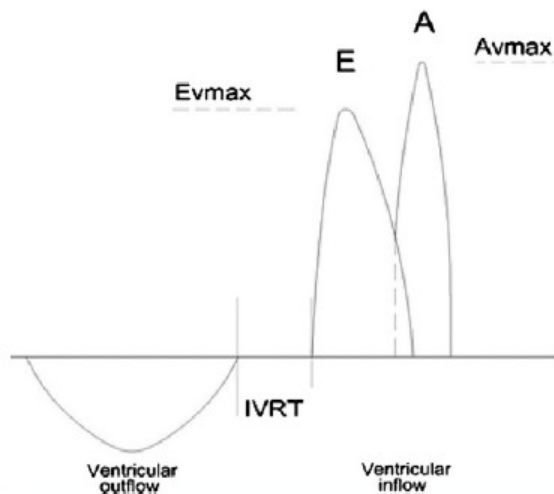


Figure 1 Doppler diastolic function measurements.

early filling (represented by E wave), diastasis (period of low flow in mid-diastole) and atrial filling (represented by A wave). Myocardial relaxation is an active process influencing IVRT and part of the rapid early filling phase. Major factors effecting relaxation include elastic recoil of the myocardium, intracellular calcium overload and asynchrony between contraction and relaxation events. Ventricular compliance is a passive process influencing all three filling phases of diastole, namely E wave, diastasis and A wave. All diastolic parameters are influenced by heart rate and loading conditions. They are also age dependent.

The purpose of this study was to describe values of diastolic flow parameters for preterm infants with birth weights of <1250 g in the first 2 days of life. Cardiac output, superior vena cava (SVC) flow, patency and flow direction of patent ductus arteriosus (PDA) were measured to better understand haemodynamic changes.

Table 1 Abbreviations of diastolic doppler measurements

E wave	Early wave – first, passive filling of ventricle
A wave	Atrial wave – secondary, active filling of ventricle during atrial contraction
Evmax	Early filling peak velocity, cm/sec
Avmax	Atrial filling peak velocity, cm/sec
E-VTI	Velocity time integral of early wave, cm
A-VTI	Velocity time integral of atrial wave, cm
Atrial filling fraction (AFF)	AFF, calculated as ratio of A-VTI and the sum of E-VTI and A-VTI
tEacc	Early filling acceleration time, msec
Isovolumic relaxation time (IVRT)	IVRT, time between cessation of aortic/pulmonary outflow and the beginning of mitral/tricuspid inflow, msec

METHODS

This was a prospective observational study performed in a level III intensive care unit in the Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland, between February 2010 and June 2010. Newborns with a birth weight <1250 g were eligible for enrolment. Patients with congenital heart disease, excluding PDA and foramen ovale, or major congenital malformation were excluded. Parental consent was obtained prior to enrolment. The hospital research ethics committee approved the study. Echocardiography was performed and clinical parameters assessed at six, 12, 24 and 48 h of age. Infants were examined in a supine position, in a quiet resting state and without sedation.

Echocardiography

Examinations were performed using a Phillips HD11XE ultrasound machine with curved array transducer (5–8 MHz) or sector array transducer (4–12 MHz). Velocity tracings were recorded at a chart speed 100 mm/sec and saved on hard disk for offline evaluation. To record the velocity flow patterns, an apical four-chamber view was visualised and the Doppler sample volume was placed between the tips of mitral and tricuspid valve. The transducer beam was kept as close as possible to the Doppler beam at <20 degrees in selected plains. No angle correction of the Doppler signal was applied. Structural normality of the heart was established on the first measurement. A single investigator examined the data and calculated offline diastolic parameters (JS). All parameters were calculated as an average value of five consecutive heart cycles, as used by others (5,6).

Superior vena cava flow, left ventricle cardiac output (LVO) and right ventricle cardiac output (RVO) were calculated using the following formula:

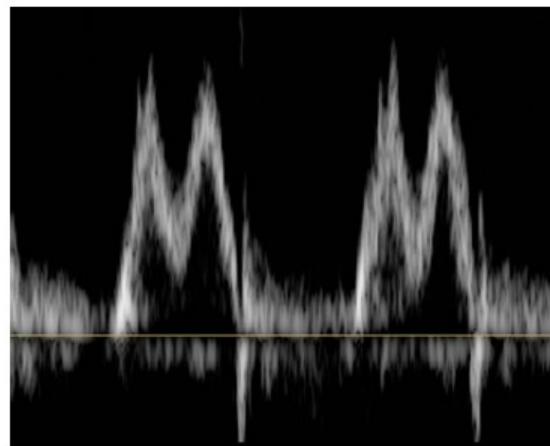


Figure 2 Echocardiography doppler diastolic function measurement.

Table 2 Clinical parameters of the cohort

	6 h	12 h	24 h	48 h
Ventilation (No.)	16	13	14	10
Mean Airway Pressure (cm H ₂ O) ± SD	7.6 ± 2.1	6.1 ± 2.0	6.8 ± 1.4	6.7 ± 3.7
Inotropic supp. (No.)	2	4	3	1
Mean blood pressure (cm Hg) ± SD	33.3 ± 8.1	34.1 ± 8.0	35.2 ± 7	39.5 ± 10.1
Heart rate (per min) ± SD	156 ± 13.5	155 ± 15.5	157 ± 15.3	153 ± 14.9
Patent ductus arteriosus (PDA) patency (No.)	22	22	21	19
PDA diameter (mm) ± SD	2.0 ± 0.8	1.7 ± 0.7	1.6 ± 0.7	1.7 ± 0.9
PDA left-to-right flow (No.)	13	17	17	14
Time of measurement (h)	6.3 ± 0.5	12.4 ± 0.6	24.4 ± 0.8	48.7 ± 1.1

$$\text{flow} = (\text{velocity time integral} \times (\pi \times (\text{mean diameter}^2/4) \times \text{heart rate})/\text{birth weight},$$

and all measurements were performed as described previously (11,12). Assessment of PDA included diameter, flow pattern and left atrium to aorta ratio. Heart rate was calculated using the interval between peak flow waves.

Diastolic function parameters

E- and A-wave parameters were calculated by manually tracing the outmost border of the Doppler flow signal (Table 1) (Figs 1 and 2). Peak flow velocity of early diastole (E_vmax) and peak flow velocity during atrial contraction (A_vmax) were measured as the highest point of the wave. Early filling acceleration time (tEacc) is the time between opening of atrioventricular valve and E_vmax. Velocity time integrals of early (E-VTI) and atrial wave (A-VTI) were determined by the area under the diastolic flow curve. Atrial filling fraction (AFF) was calculated as $\text{AFF} = \text{A-VTI}/(\text{E-VTI} + \text{A-VTI})$ (6,9,10). If early and late waveforms overlapped, the descending part of E-VTI was extrapolated as a straight line continuing to zero in the same slope (6,9,10). When merging was total and two peaks were not detectable, measurement was considered inaccurate and excluded from statistics. Isovolumic relaxation time of left (LV-IVRT) and right (RV-IVRT) ventricle is the time between closing of aortic/pulmonary valve and opening of mitral/tricuspid valve. IVRT was measured using pulsed-wave Doppler from

a simultaneously recorded ventricular inflow and outflow tract from the five-chamber subcostal view (6,9,10).

Clinical parameters

Ventilation and circulation support (catecholamine or volumotherapy within the six h before examination) were recorded before echocardiography. If invasive blood pressure was not available, noninvasive blood pressure parameters were acquired using an appropriate sized cuff. The blood gas prior to the examination, either arterial or capillary sample, was recorded.

Statistical analysis

We analysed the data using a PC-based statistics package (StatsDirect version 2.7.8, StatsDirect Ltd, Altrincham, UK) using paired *t*-test and Pearson correlation as appropriate, with *p* < 0.05 considered significant.

RESULTS

There were 22 preterm infants enrolled in the study, with a mean birth weight of 851 g (SD ± 201 g) and a mean gestational age of 25.9 weeks (SD ± 1.7). Of these, 11 were female infants and 11 were delivered by Caesarean section. At least one dose of antenatal corticosteroids was administered to 17 mothers. Normal saline as a volume expansion was administered to four infants (18%) within six h of birth, and four infants (18%) were treated with catecholamines. Three (14%) infants had a closed ductus arteriosus and two

Table 3 Mitral valve measurements

Mitral valve	6 h	12 h	24 h	48 h	p-Value (6 vs. 48 h)
E-VI (cm) ± SD	2.3 ± 0.5	2.2 ± 0.6	2.8 ± 0.6	2.8 ± 0.8	0.03
E _v max (cm/sec) ± SD	30.3 ± 7.2	31.8 ± 7.6	38.6 ± 8.2	39.5 ± 8.2	0.002
Eacc (ms) ± SD	39 ± 5	42 ± 13	43 ± 8	37 ± 7	0.36
A-VTI (cm) ± SD	3.1 ± 1.0	3.0 ± 0.9	3.7 ± 1.3	3.4 ± 1.3	0.15
A _v max (cm/sec) ± SD	49.6 ± 12.2	47.7 ± 12.4	50.4 ± 9.7	53.3 ± 11.0	0.17
Atrial filling fraction ± SD	0.56 ± 0.06	0.56 ± 0.08	0.52 ± 0.06	0.52 ± 0.08	0.02
Isovolumic relaxation time (ms) ± SD	62 ± 18	58 ± 10	50 ± 9	54 ± 10	0.1

Statistically Significant Results (p-Value) in Bold

Table 4 Tricuspid valve measurements

Tricuspid valve	6 h	12 h	24 h	48 h	p-Value (6 vs. 48 h)
E-VTI (cm) ± SD	1.8 ± 0.3	2.0 ± 0.3	2.2 ± 0.5	2.2 ± 0.4	0.03
Evmax (cm/sec) ± SD	26.6 ± 3.5	28.3 ± 5.7	30.3 ± 4.6	32.1 ± 5.2	0.01
Eact (ms) ± SD	44 ± 7	39 ± 11	45 ± 12	36 ± 9	0.14
A-VTI (cm) ± SD	3.1 ± 1.1	3.4 ± 0.9	4.0 ± 1.1	3.6 ± 1.1	0.07
					0.0004 (6 vs. 24 h)
Avmax (cm/sec) ± SD	42.5 ± 9.0	46.5 ± 8.0	51.9 ± 10.0	49.8 ± 10.7	0.008
Atrial filling fraction ± SD	0.58 ± 0.05	0.59 ± 0.04	0.58 ± 0.07	0.58 ± 0.05	0.36
Isovolumic relaxation time (ms) ± SD	70 ± 17	68 ± 21	59 ± 17	58 ± 17	0.04

Statistically Significant Results (p-Value) in Bold

(9%) a closed foramen ovale at 48 h of life. Thirteen neonates received conventional ventilation, and six neonates were on noninvasive nasal continuous positive pressure support at the time of the echocardiography. Measurements were carried out at 6.3 (± 0.5), 12.4 (± 0.6), 24.4 (± 0.8) and 48.7 (± 1.1) hours of life (Table 2). In total, 21 (95%) babies survived to discharge.

Trans mitral flow parameters

Mitral valve Evmax significantly increased from 30.3 cm/sec at six h to 39.5 cm/sec at 48 h ($p = 0.002$). Mitral valve Avmax also increased from 49.6 to 53.3 cm/sec; however, it did not reach statistical significance ($p = 0.17$). AFF, which is the fraction of atrial wave from total inflow, decreased from 0.56 to 0.52 ($p = 0.02$). E-VTI and A-VTI increased over the study period, and A-VTI was always higher than E-VTI. IVRT of the left heart decreased from 0.62 sec at six h to 0.5 sec at 24 h ($p = 0.03$) (Table 3).

Trans tricuspid flow parameters

Tricuspid valve Evmax and TV Avmax significantly increased from six to 48 h ($p = 0.01$ and $p = 0.008$, respectively). From the velocity time integrals, E-VTI increased significantly between six and 48 h of age, A-VTI increased significantly between six and 24 h of age ($p = 0.0004$) and then decreased at 48 h of age and AFF remained stable.

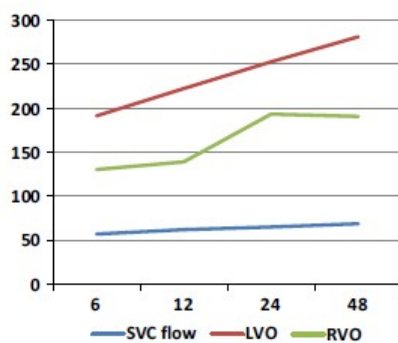


Figure 3 Changes in cardiac output and superior vena cava flow.

IVRT of right ventricle constantly decreased throughout the 48-h period (Table 4).

From all ventricular inflow measurements, 18% were not applicable for calculation as there was a high heart rate (usually above 170 beats/min) resulting in totally merged early and atrial wave components. One quarter of tricuspid parameters were excluded compared to 11% of mitral parameters. The overall results were similar after excluding patients that received inotropic support at any stage of the study.

Left ventricle cardiac output increased from 191 mL/kg/min at six h to 281 mL/kg/min at 48 h of age. RVO increased during the first 24 h and remained constant at 48 h. SVC flow increased during the study period, but the difference was not statistically significant (Fig. 3). There were nine infants (41%) with low SVC flow in at least one measurement; six (27%) had low SVC flow at six h, five (23%) at 12 h, one (5%) at 24 h and two (9%) at 48 h of age. There was a significant correlation between LVO and SVC flow at six and 12 h ($r = 0.45$, p -value 0.04 and $r = 0.67$, p -value 0.001, respectively). RVO also correlated with SVC flow at six and 12 h ($r = 0.44$, p -value 0.04 and $r = 0.71$, p -value 0.0003). There was no correlation between left or right cardiac output and SVC at 24 and 48 h of life.

All neonates had an open PDA at six and 12 h, and this had closed in one infant at 24 and three infants at 48 h. Transductal flow was predominantly left to right; no one had pure right-to-left flow (Table 2).

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first study describing diastolic left and right ventricular flow parameters in very low birth weight infants in the first 48 h of life. We have shown that diastolic function of the left ventricle improves over the first 48 h of life as mitral valve Evmax significantly increased during this period and IVRT decreased significantly between six and 24 h of age. The initial mitral valve Evmax in our cohort at six h of age was comparable to foetal data at the same gestational age (5) despite reduced left ventricular preload in the foetal period (13). The expected increase in the left ventricular preload following delivery resulted in an improved mitral valve Evmax at 48 h of life suggestive of improved diastolic relaxation of the left ventricle. However,

mitral valve E_{max} was still reduced compared to values seen in four-week-old preterm infants without a PDA or in term neonates (6). Mitral valve A_{max} did not change significantly over the first 48 h, but AFF decreased with improving ventricle relaxation.

We observed a similar significant improvement in right ventricle relaxation (as tricuspid valve E_{max} significantly improved over the first 48 h), together with a reduction in the right ventricle IVRT. However, the AFF did not change significantly as tricuspid valve A_{max} increased significantly within first 48 h. We speculate this was related to improved right ventricle compliance rather than atrial contraction. Compared to foetuses of the same gestational age, tricuspid E_{max} was reduced after delivery (5). There could be more reasons for decreased relaxation properties of the right ventricle. Slow transition from foetal to neonatal circulation with increased pulmonary blood pressure and afterload is frequently observed in preterm infants. Secondly, positive pressure ventilation could influence diastolic function. However, we did not observe any consistent significant relationship between mean airway pressure and right ventricular diastolic function.

Diastolic parameters are age dependent. The AFF decreases from foetuses to infants and children and then subsequently increases with advanced age (5,9,14). E_{max} is the main marker of diastolic relaxation, as it represents the pressure gradient between the atrium and ventricle. It increases when relaxation improves. A few studies have addressed the effect of preload on Doppler atrioventricular velocity pattern in adult humans, but the results are conflicting. Decreasing preload leads to reduced peak velocity and velocity time integral of E wave without changes of A wave (15–17). However, in adults with chronic heart failure, abnormally high preload leads to a greater gradient between atrium and ventricle and a dominant E wave. Preload increases after the birth (left and right cardiac output and SVC flow steadily increase), but atrial pressure is also influenced by other factors including patency of foramen ovale and ductus arteriosus, which are open in almost all very preterm neonates (18,19). PDA increases preload of left ventricle, and atrial shunting will increase preload of right ventricle. However, in preterm newborns, it is difficult to measure volume or ratio of these cardiac shunts, so we can just speculate about effects on inflow parameters.

The physiological determinants of A_{max} are more complex than E_{max} . The pressure gradient depends on ventricular compliance and atrial contraction. As mentioned above, reduction of preload may not change the A wave. On other hand, it has been shown that the strength of atrial contraction is a direct function of preload (20). Neonates with PDA and elevated preload have higher mitral A_{max} and also A-VTI than neonates without open shunts (10). The mitral valve A_{max} in our group is comparable to term infants in the first day of life (21) and higher than preterm healthy neonates with patent or closed ductus arteriosus (6,10). The tricuspid A_{max} does

not differ from foetuses of same gestational age. Elevated left ventricular output is not the only explanation, because increasing tricuspid valve A_{max} is more significant compared to mitral valve A_{max} despite smaller increase of RVO and right ventricular preload. The improved diastolic function is the second explanation of the improved A_{max} .

Isovolumic relaxation time is age dependent. In the foetal period, IVRT steadily increases from 17 weeks gestation to term (5). Post-natally, IVRT is lowest during the infancy. It has been shown that an augmented preload causes a decrease in IVRT (10). Mielke showed that combined left and right ventricular output of the human foetus is 425 mL/kg/min and is not dependent on gestational age (13). We have shown that the IVRT of both ventricles is elevated after birth and decreases over the next 48 h. The combined ventricular output of our cohort increases from 330 mL/kg/min at six h to 470 mL/kg/min at 48 h of life. It means that at 48 h of life, when neonatal cardiac output is higher compared to combined foetal cardiac output, neonatal IVRT remains higher than foetal IVRT. It is suggestive of impaired ventricular relaxation. Higher values of the right ventricular IVRT than the left ventricular IVRT might explain why it was more difficult to obtain tricuspid parameters. A prolonged IVRT shifts the E wave closer to A wave and hence will overlap more frequently.

Myocardial tissue Doppler imaging is another method for assessing diastolic function (22–24). Estimation of myocardial velocity is based on the principles of pulsed-wave and colour Doppler echocardiography. The combination of tissue Doppler and atrioventricular flow Doppler, such as E/E' parameter, is currently being used to assess diastolic function in neonates (25,26), but data are limited to date in this population, and a comparison with atrioventricular flow parameters has not been performed.

There are some limitations of our study. Firstly, the number of patients was small. Secondly, the gestational age of the cohort was wide. Diastolic parameters depend on gestational age, and there were gestational age differences of up to six weeks. Another notable point was the heterogeneous clinical condition of the newborns, as there were stable neonates with minimal support and also critically ill patients. Finally, as we mentioned, 18% measurements were not applicable for calculation because of totally merged filling waves. This occurred most noticeably when the heart rate was above 170/min.

In conclusion, this study identifies changes of filling parameters in the first 48 h of life, which we believe demonstrates impaired diastolic function in preterm infants during the first 48 h of life with diminished relaxation of the both ventricles. This presumed dysfunction improves over the 48-h study period. This data can help with understanding the post-natal circulatory transition of extremely preterm infants, and targeted approaches to improve relaxation properties of the both ventricles should be evaluated in the future studies. These parameters may provide further insight into the management of circulatory failure in the preterm infant in the first 48 h of life.

FUNDING

No financial assistance was received to support the study.

References

- Osborn DA, Evans N, Kluckow M. Hemodynamic and antecedent risk factors of early and late periventricular/intraventricular hemorrhage in premature infants. *Pediatrics* 2003; 112: 33–9.
- Hunt RW, Evans N, Rieger I, Kluckow M. Low superior vena cava flow and neurodevelopment at 3 years in very preterm infants. *J Pediatr* 2004; 145: 588–92.
- Osborn DA, Evans N, Kluckow M, Bowen JR, Rieger I. Low superior vena cava flow and effect of inotropes on neurodevelopment to 3 years in preterm infants. *Pediatrics* 2007; 120: 372–80.
- Miletin J, Dempsey EM. Low superior vena cava flow on day 1 and adverse outcome in the very low birthweight infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; 93: F368–71.
- Harada K, Rice MJ, Shiota T, Ishii M, McDonald RW, Reller MD, et al. Gestational age- and growth-related alterations in fetal right and left ventricular diastolic filling patterns. *Am J Cardiol* 1997; 79: 173–7.
- Schmitz L, Stiller B, Pees C, Koch H, Xanthopoulos A, Lange P. Doppler-derived parameters of diastolic left ventricular function in preterm infants with a birth weight <1500 g: reference values and differences to term infants. *Early Hum Dev* 2004; 76: 101–14.
- Bryg RJ, Williams GA, Labovitz AJ. Effect of aging on left ventricular diastolic filling in normal subjects. *Am J Cardiol* 1987; 59: 971–4.
- Marijanowski MM, van der Loos CM, Mohrschlatt MF, Becker AE. The neonatal heart has a relatively high content of total collagen and type I collagen, a condition that may explain the less compliant state. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23: 1204–8.
- Schmitz L, Koch H, Bein G, Brockmeier K. Left ventricular diastolic function in infants, children, and adolescents. Reference values and analysis of morphologic and physiologic determinants of echocardiographic Doppler flow signals during growth and maturation. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 1441–8.
- Schmitz L, Stiller B, Koch H, Koehne P, Lange P. Diastolic left ventricular function in preterm infants with a patent ductus arteriosus: a serial Doppler echocardiography study. *Early Hum Dev* 2004; 76: 91–100.
- Kluckow M, Evans N. Superior vena cava flow in newborn infants: a novel marker of systemic blood flow. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82: F182–7.
- Evans N, Kluckow M. Early determinants of right and left ventricular output in ventilated preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996; 74: F88–94.
- Mielke G, Benda N. Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus. *Circulation* 2001; 103: 1662–8.
- Allan LD, Chita SK, Al-Ghazali W, Crawford DC, Tynan M. Doppler echocardiographic evaluation of the normal human fetal heart. *Br Heart J* 1987; 57: 528–33.
- Triulzi MO, Castini D, Ornaghi M, Vitolo E. Effects of preload reduction on mitral flow velocity pattern in normal subjects. *Am J Cardiol* 1990; 66: 995–1001.
- Choong CY, Herrmann HC, Weyman AE, Fifer MA. Preload dependence of Doppler-derived indexes of left ventricular diastolic function in humans. *J Am Coll Cardiol* 1987; 10: 800–8.
- Vandenberg BF, Rumberger JA, Kerber RE. Influence of sublingual nitroglycerin on diastolic transmitral flow velocities in normal subjects. *Am J Cardiol* 1988; 61: 481–2.
- Evans N, Iyer P. Incompetence of the foramen ovale in preterm infants supported by mechanical ventilation. *J Pediatr* 1994; 125: 786–92.
- Koch J, Hensley G, Roy L, Brown S, Ramaciotti C, Rosenfeld CR. Prevalence of spontaneous closure of the ductus arteriosus in neonates at a birth weight of 1000 grams or less. *Pediatrics* 2006; 117: 1113–21.
- Alexander J Jr, Sunagawa K, Chang N, Sagawa K. Instantaneous pressure-volume relation of the ejecting canine left atrium. *Circ Res* 1987; 61: 209–19.
- Harada K, Shiota T, Takahashi Y, Tamura M, Toyono M, Takada G. Doppler echocardiographic evaluation of left ventricular output and left ventricular diastolic filling changes in the first day of life. *Pediatr Res* 1994; 35: 506–9.
- Lee A, Nestaas E, Liestol K, Brunvand L, Lindemann R, Fugelseth D. Tissue Doppler imaging in very preterm infants during the first 24 h of life: an observational study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2014; 99: F64–9.
- Mori K, Nakagawa R, Nii M, Edagawa T, Takehara Y, Inoue M, et al. Pulsed wave Doppler tissue echocardiography assessment of the long axis function of the right and left ventricles during the early neonatal period. *Heart* 2004; 90: 175–80.
- Comas M, Crispi F, Gomez O, Puerto B, Figueras F, Gratacos E. Gestational age- and estimated fetal weight-adjusted reference ranges for myocardial tissue Doppler indices at 24–41 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 57–64.
- Negrine RJ, Chikermane A, Wright JG, Ewer AK. Assessment of myocardial function in neonates using tissue Doppler imaging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2012; 97: F304–6.
- Iwashima S, Sekii K, Ishikawa T, Itou H. Serial change in myocardial tissue Doppler imaging from fetus to neonate. *Early Hum Dev* 2013; 89: 687–92.

5.2. Oxygenační index mozkové tkáně, srdeční výdej a návrat horní dutou žílou u novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů v prvních 48 hodinách

Oběhové selhání je častou komplikací nedonošených novorozenců. Incidence stoupá s klesající porodní hmotností (28). Diagnostické možnosti jsou u této rizikové skupiny pacientů omezené. Near infrared spectroscopy (NIRS) je neinvazivní metoda s možností kontinuálního měření oxygenace tkáně. Funkční echokardiografie (bed-side ultrazvukové vyšetření srdce novorozence se zaměřením na funkční změny prováděné neonatologem) se již standardně používá v diagnostice a terapii srdečního selhání (4,29). Cílem studie je popis změn systémového průtoku a jeho vliv na oxygenaci mozku.

Metodika

Jedná se o prospektivní observační studii. Zařazeni byli novorozenci s porodní hmotností pod 1250 gramů. Echokardiografické vyšetření bylo provedeno 6, 12, 24 a 48 hod po porodu. Při prvním vyšetření byla vyloučena vrozená vada srdce (novorozenci s otevřenou tepennou dučejí a foramen ovale byli ve studii ponecháni). Srdeční výdej levé (LVO) a pravé (RVO) komory a návrat horní dutou žílou (SVC flow) jsme měřily dle popsané metodiky (17,18). Průtok horní dutou žílou pod 41 ml/kg/min byl definován jako nízký (1). NIRS sonda k měření oxygenace mozkové tkáně (cerebral tissue oxygenation index - cTOI) byla umístěna vlevo frontoparietálně. 30 minut dlouhý záznam se zaznamenával v 5-ti sekundovém intervalu před echokardiografickým vyšetřením. Z průměrné hodnoty cTOI a periferní saturace se vypočítala tkáňová extrakce kyslíku (cerebral fractional tissue oxygen extraction – cFTOE). Po echokardiografii a následně každých 14 dní do propuštění novorozence jsme provedli ultrazvukové vyšetření mozku. Intraventrikulární/periventrikulární krvácení (IVH) a periventrikulární leukomalácie (PVL) byli klasifikováni podle Papila (30) a de Vries (31).

Během NIRS vyšetření jsme zaznamenávaly klinická data o ventilační a oběhové podpoře. Před nebo po měření byla vyšetřena hladina krevních plynů a acidobazická rovnováha.

Ke statistické analýze byl použit párový t-test, Mann-Whitney U test a Pearsonův korelační koeficient ve statistickém softwaru StatsDirect verze 2.7.8. (StatsDirect Ltd, Altrincham, UK).

Výsledky

Celkem bylo do studie zařazeno 22 novorozenců s průměrným gestačním stářím 25,9 týdne a porodní hmotností 851 g. 4 novorozenci dostali volumoexpanzi v prvních 6 hodinách věku a 4 byli léčeni katecholaminy. 16 dětí bylo na umělé plicní ventilaci, z toho 3 na inhalační terapii oxidem dusnatým. U 4 dětí jsme diagnostikovali IVH 2. a vyššího stupně. 21 se dožilo do propuštění.

cTOI kleslo ve 12. hodině s následným signifikantním vzestupem ve 24. hodině a zůstalo bez změny ve 48. hodině. cFTOE stoupl ve 12. hodině s následným poklesem ve 24. hodině. SVC flow nesignifikantně stoupl během prvních 48 hodin ($p = 0,07$). 9 dětí mělo nízký SVC flow alespoň při jednom vyšetření, nejčastěji v 6. hodině. SVC flow negativně korelovalo s cTOI v 6. hodině, později mezi těmito parametry korelace nebyla. Srdeční výdej levé komory výrazně stoupl z 191 na 281 ml/kg/min, srdeční výdej pravé komory stoupl do 24. hodiny, poté se neměnil. Krevní tlak stoupl během sledovaného období.

Diskuze

Meek (32) a Naulaers (33) popisují vzestup cTOI v prvních 3 dnech u nedonošených novorozenců. Takami (34) konzistentně s námi popsal u extrémně nedonošených novorozenců pokles cTOI v prvních 12 hodinách s následným vzestupem. Pokles byl provázen vyšší extrakcí kyslíku (cFTOE) z krve. Domníváme se, že tyto změny reflektují poruchu prokrvení mozku u extrémně nedonošených novorozenců krátce po porodu. Je to kritické období, kdy může dojít ke krvácení do mozku v rámci reperfučního poškození (35). Hodnoty cTOI jsou srovnatelné s již publikovanými na menších skupinách pacientů (32,33). Sorensen (36) publikoval normativní data měřená jiným typem přístroje (NIRO-300), která jsou vyšší než naše. Námi publikované hodnoty mohou reprezentovat normativní data pro přístroj NIRO-200 u extrémně nedonošených novorozenců.

41% novorozenců mělo alespoň při jednom vyšetření nízký průtok horní dutou žílou. Je to více než v dosud publikovaných studiích (1,3,37). Největší incidence nízkého SVC flow byla v prvních 12 hodinách, kdy se nejčastěji klinicky projeví oběhová nestabilita. SVC flow pozitivně koreluje s gestačním stářím novorozenců v prvních 24 hodinách (1). Předpokládáme, že nízké gestační stáří a nízká hmotnost pacientů v porovnání s ostatními studii je vysvětlením vysokého zastoupení pacientů s nízkým SVC flow.

Z výsledků předchozí studií popisujících slabou korelaci mezi SVC flow a cTOI vyplývá, že autoregulace průtoku krve mozkiem u extrémně nedonošených novorozenců je porušena (34,38). My jsme nenašli korelaci mezi SVC flow a cTOI ve 12., 24. a 48. hodině, naopak v 6. hodině byla korelace negativní. Možným vysvětlením je, že SVC flow nereprezentuje dobře průtok krve mozkiem, ale především průtok horní části těla včetně horních končetin. Dalším vysvětlením může být nepřesnost echokardiografického měření průtoku horní dutou žílou. Kluckow první popsal SVC flow jako možný parametr průtoku krve mozkiem s přijatelnou intra i interobservační variabilitou (18). Novorozenci s nízkým SVC flow mají také častěji intraventrikulární/periventrikulární krvácení (1). Porovnání mezi echokardiograficky měřeným SVC flow a přesnější funkční magnetickou rezonancí ovšem odhalilo jen slabou korelaci. Pravděpodobná chyba při ultrazvukovém vyšetření vzniká při nepřesném změření průřezu žíly v sagitálním zobrazení, protože její průměr je často nepravidelný a podléhá tlaku naléhající vysokotlaké aorty (39).



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Early Human Development

journal homepage: www.elsevier.com/locate/earlhumdev

Cerebral tissue oxygenation index, cardiac output and superior vena cava flow in infants with birth weight less than 1250 grams in the first 48 hours of life

J. Sirc^{a,b,d}, E.M. Dempsey^c, J. Miletin^{a,b,*}^a Department of Paediatric and Newborn Medicine, Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland^b Neonatal Intensive Care Unit, Institute for the Care of Mother and Child, Prague, Czech Republic^c Department of Paediatrics and Child Health, University College Cork, Ireland^d Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 August 2012

Received in revised form 6 April 2013

Accepted 9 April 2013

Available online xxxxx

Keywords:

Preterm infants

Very low birth weight

Superior vena cava flow

Near infrared spectroscopy

Cerebral tissue oxygenation index

Functional echocardiography

ABSTRACT

Background: Near-infrared spectroscopy is a non-invasive method of assessing cerebral oxygenation. Functional echocardiography is increasingly used by neonatologists in the assessment of cardiovascular function.

Aims: To correlate cerebral tissue oxygenation index (cTOI) and cardiac output in infants less than 1250 g at 6, 12, 24 and 48 hours of age.

Study design: A prospective observational study.

Subjects: Newborns with birth weight < 1250 g.

Outcome measures: Serial assessments of superior vena cava (SVC) flow, right and left ventricular outputs, ductus arteriosus and cTOI were performed at 6, 12, 24 and 48 hours of age. Clinical parameters, including mean blood pressure, mean airway pressure, blood gas parameters and oxygen saturations were recorded.

Results: 22 neonates were enrolled following parental consent. The mean birth weight was 851 g (SD ± 201), mean gestational age was 25.9 weeks (SD ± 1.7). Mean SVC flow at 6 hours of age was 56.8 ml/kg/min and increased to 68.6 ml/kg/min at 48 hours of age. 9 infants (41%) had at least one measurement of low SVC flow (<41 ml/kg/min) in the first 48 hours. Mean cTOI was 65.2% at 6 hours of age, 63.9% at 12 hours of age, 68.8% at 24 hours of age and 67.2% at 48 hours of age. Cerebral fractional tissue oxygen extraction values were highest at 12 hours (0.31 ± 0.09). There was no correlation between SVC flow and cTOI values.

Conclusion: SVC flow, left and right ventricular output increased during first 48 hours of life. cTOI decreased at 12 hours of age with a concomitant increase in fractionated oxygen extraction. These changes reflect transitional changes in both cardiac and cerebral hemodynamics in extremely low gestational age newborns during the first 48 hours.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Despite continued advances in neonatal intensive care very preterm and extremely preterm infants remain at risk of short and long term morbidity. Approximately one third are affected by cardiovascular insufficiency resulting in systemic hypoperfusion and ischemia of vital organs [1]. Periventricular/intraventricular haemorrhage and periventricular leucomalacia are major complications of cerebral ischemia [2]. The critical period remains the first 48 hours of life; however, the ability to recognize infants with systemic or cerebral hypoperfusion remains limited.

Near-infrared spectroscopy (NIRS) is a relatively non-invasive bedside method to measure tissue oxygenation continuously. Spatially resolved spectroscopy makes it possible to measure ratio of absolute oxygenated haemoglobin to total haemoglobin (tissue oxygenation index) and represents an average of arterial and venous blood oxygenation [3,4]. When measured in the brain this is referred to as the cerebral tissue oxygenation index (cTOI). A previous study has documented an increase in cTOI during the first 3 days of life in preterm infants [5].

Functional echocardiography is increasingly used by neonatologists in the assessment of cardiovascular status of the newborn in neonatal intensive care unit. It provides information on both heart structure and function. With Doppler techniques, it is possible to measure cardiac output, superior vena cava (SVC) flow and shunts, including the patent ductus arteriosus. It is estimated that approximately 80% of upper body blood flow goes to the brain [6], suggesting that SVC flow may be a surrogate marker of cerebral perfusion. Low SVC flow has been associated

* Corresponding author at: Dept. of Neonatology, Coombe Women and Infants University Hospital, Cork Street, Dublin 8, Ireland. Tel.: +353 1 4085654; fax: +353 1 4085209.

E-mail address: miletinj@yahoo.com (J. Miletin).

with an increased risk of peri/intraventricular haemorrhage in preterm neonates [1,7].

We previously identified a weak correlation between SVC flow and cTOI in very low birth weight infants on the day 1 of life [8]. The aim of this study was to validate these findings in a similar, but lower birth weight and more immature group, utilising serial measurement of cerebral oxygenation by near infrared spectroscopy and echocardiographically measured cardiac output and input at predefined times over the first 48 hrs of life.

2. Methods

We conducted a prospective observational study at a level III neonatal intensive care unit (Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland) between February and June 2010. The study was approved by research ethics committee of the hospital. Neonates with birth weight less than 1250 g admitted to neonatal intensive care unit were eligible for enrolment and informed parental consent was obtained. Patients with congenital heart disease (excluding patent ductus arteriosus and foramen ovale) or major congenital malformations were excluded. All echocardiography and NIRS measurements as well as physiological data were recorded at 6, 12, 24 and 48 hours of age. Attending physicians were blinded to data from the study and values obtained (SVC flow and cTOI measurements) were not used in the management of infants.

2.1. Echocardiography studies

Phillips HD11XE ultrasound machine with 5–8 MHz transducer incorporating colour flow and pulsed wave Doppler with adaptive Doppler technology was used. A complete two-dimensional echocardiography examination was performed and structural normality of the heart was established on the first measurement. Infants were in supine position and were not sedated. No angle correction was used for Doppler measurements. We used methods described previously in the literature [9,10]. All parameters were calculated as an average value of five consecutive heart cycles. Velocity time integrals of SVC flow are influenced by respiration. If obvious pattern of size or shape of velocity time integrals was seen, we calculated consecutive complexes to cover all shapes equally. SVC flow, left and right cardiac output (LVO, RVO) were calculated using formula: flow = (velocity time integral \times π \times (mean diameter²/4) \times heart rate)/birth weight. A single investigator [JS] performed all examinations. JS is experienced in targeted neonatal echocardiography and obtained formal training supervised by a paediatric cardiologist. All scans were recorded on the hard disk and values were calculated at a later stage. Low SVC flow was defined as flow less than 41 ml/kg/min [1,7].

2.2. Cranial ultrasound

We used a 7.5 MHz transducer for the cranial ultrasound, which was performed after all echocardiography examinations, then serially every 2 weeks and before discharge from the hospital. IVH was classified according to Papile grading [11] and PVL according to the definition by de Vries et al. [12].

2.3. NIRS

All measurements were done using the NIRO-200 machine (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu City, Japan). The probe was secured on the fronto-parietal region and shaded against ambient light. Mean cTOI from the 30 min period prior the echocardiography was calculated. The sample time was one every 5 second. Cerebral fractional tissue oxygen extraction (cFTOE) was calculated as cFTOE = (periph. SaO₂ – cTOI)/periph. SaO₂.

2.4. Clinical parameters

Parameters of ventilation support (ventilation mode, mean airway pressure, fraction of inspired oxygen), invasive blood pressure (if invasive measurement was not available, non-invasive blood pressure with pressure cuff of appropriate size was used) and circulatory support (catecholamine, volumotherapy in 6 hours before examination) were recorded before echocardiography. Arterial blood gas or capillary sample was obtained at the time of echocardiography.

2.5. Statistical analyses

We analysed the data using a PC-based statistics package (StatsDirect version 2.7.8) using paired *t*-test, Mann–Whitney U test and Pearson correlation as appropriate, *p* < 0.05 was considered significant.

3. Results

The study population consisted of 22 preterm infants with mean birth weight 851 grams (SD \pm 201 g) and mean gestation age 25.9 weeks (SD \pm 1.7). There were 11 female infants and 11 infants were delivered by caesarean section. The mothers of 17 infants received at least one dose of antenatal corticosteroids. 13 neonates received conventional ventilation, 3 high frequency oscillation and 6 neonates were on non-invasive nasal continuous positive airway pressure support at the time of the echocardiography. There were 3 infants on inhaled nitric oxide during the first 48 hours. A bolus of normal saline was administered to 4 infants (18%) within 6 hours of birth and 4 infants (18%) were treated with catecholamine. 21 (95%) babies survived to discharge. There were 4 infants who developed an intracranial haemorrhage grade 2 or more (Table 1). There were no infants excluded from the study.

cTOI decreased at 12 hours of age followed by a statistically significant increase at 24 hours of age (*p* = 0.008) and remained stable at 48 hours of age; mean values (\pm SD) were 65.2% (\pm 10.05) at 6 hours, 63.9% (\pm 5.93) at 12 hours, 68.8% (\pm 5.65) at 24 hours and 67.2% (\pm 7.15) at 48 hours of life. This was accompanied by reciprocal changes in cFTOE values. There was a non significant increase from 6 to 12 hours followed by a statistically significantly decrease at 24 hours of age (*p* = 0.05) which remained stable at 48 hours (Table 2).

SVC flow increased during the study period; mean values (\pm SD) were 56.8 ml/kg/min (\pm 26.1) at 6 hours, 61.8 ml/kg/min (\pm 28.8) at 12 hours, 64.9 ml/kg/min (\pm 19.1) at 24 hours and 68.6 ml/kg/min (\pm 26.5) at 48 hours of life, however this did not reach statistical significance (*p* = 0.07). 9 infants (41%) had low SVC flow in at least one measurement, the majority [6] of whom (27%) had low SVC flow at 6 hours, 5 (23%) at 12 hours, 1 (5%) at 24 hours and 2 (9%) neonates had low SVC flow at 48 hours of age. One infant had three recordings of low SVC flow and 3 infants had low SVC flow in two consecutive measurements. SVC flow negatively correlated with cTOI at 6 hours (*p*-value 0.02, correlation coefficient *r* = – 0.49) (Fig. 1). There was no statistically significant correlation between SVC flow and cTOI at 12, 24 and 48 hours of age.

Four infants in our cohort developed severe IVH. One with a grade IV haemorrhage had severe pulmonary hypertension treated by

Table 1
Demographic data.

	Mean	SD
Birth weight (g)	851.9	201.9
Gestational age (week)	25.9	1.7
Female no. (%)	11 (50)	
Antenatal steroids no. (%)	17 (77)	
Vaginal delivery no. (%)	11 (50)	
IVH \geq grade 2 no. (%)	4 (18)	
Survival no. (%)	21 (95)	

Please cite this article as: Sirc J, et al, Cerebral tissue oxygenation index, cardiac output and superior vena cava flow in infants with birth weight less than 1250 grams in the first 48 hours of life, Early Hum Dev (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.earhumdev.2013.04.004>

Table 2
Echocardiography, NIRS measurements and clinical parameters.

	6 hours	12 hours	24 hours	48 hours
cTOI (%) (mean ± SD)	65.2 ± 10.0	63.9 ± 5.9	68.8 ± 5.7	67.2 ± 7.2
cFTOE (mean ± SD)	0.29 ± 0.1	0.31 ± 0.08	0.26 ± 0.07	0.27 ± 0.08
SVC flow (ml/kg/min) (mean ± SD)	56.8 ± 26.1	61.8 ± 28.8	64.9 ± 19.1	68.6 ± 26.5
Number low SVC flow	6	5	1	2
LVO (ml/kg/min) (mean ± SD)	191.3 ± 52.9	222.4 ± 79.1	252.8 ± 59.5	281.2 ± 88.2
RVO (ml/kg/min) (mean ± SD)	130.3 ± 64.4	139.1 ± 65.5	193.4 ± 87.2	190.7 ± 73.8
pH (mean ± SD)	7.33 ± 0.06	7.33 ± 0.06	7.32 ± 0.08	7.28 ± 0.09
pO ₂ (kPa) (mean ± SD)	6.3 ± 1.1	6.2 ± 1.0	6.3 ± 1.6	6.2 ± 1.0
pCO ₂ (kPa) (mean ± SD)	5.6 ± 0.9	5.5 ± 0.9	5.9 ± 1.2	6.1 ± 1.4
Hgb (g/dl) (mean ± SD)	15.7 ± 2.2	N/A	N/A	14.6 ± 2.4
Peripheral saturation (%) (mean ± SD)	91.7 ± 3.9	92.2 ± 4.5	93.5 ± 3.8	92.5 ± 3.8
Mean blood pressure (mm Hg) (mean ± SD)	33.3 ± 8.1	34.1 ± 8.9	35.2 ± 7.0	39.5 ± 10.1
Inotropic support no. (%)	3 (14)	4 (18)	3 (14)	1 (5)
Volumotherapy within 6 hours No. (%)	3 (14)	2 (9)	0 (0)	3 (14)
Steroid for hypotension no. (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)
Persistent ductus arteriosus No. (%)	22 (100)	22 (100)	21 (95)	19 (86)
Persistent foramen ovale No. (%)	20 (91)	20 (91)	20 (91)	20 (91)

inhaled nitric oxide. SVC flow was very low at 6 and 12 hours (8 and 17 ml/kg/min) with subsequent improvement (61 and 59 ml/kg/min at 24 and 48 hours). LVO was also markedly low (35 ml/kg/min at 6 hours) and increased to 339 ml/kg/min at 48 hours. cTOI was in normal range (62%, 61%, 63%) and increased to 80% at 48 hours. IVH was diagnosed on day 4 of life. A second infant with grade IV IVH had a pulmonary haemorrhage at 30 hours of life. SVC flow was high in all measurements (between 85 and 135 ml/kg/min) and cTOI values were in normal range. A third infant was treated with catecholamines and volume infusion in the first 24 hours because of low blood pressure and poor perfusion. Flow parameters and cTOI were all normal. A grade III IVH was diagnosed at 24 hours. The final infant with a grade II IVH was born at home. SVC flow was low only at 6 hours (32 ml/kg/min) and cTOI was always in normal range. One infant born at 24 weeks gestation with birth weight 670 g died day 20 of life. cTOI and SVC flow were also in the normal range.

Mean left ventricular output (LVO) increased from 191 ml/kg/min at 6 hours to 281 ml/kg/min at 48 hours of age ($p = 0.002$). Right ventricular output (RVO) increased in the first 24 hours and remained constant at 48 hours. There was a significant correlation between LVO and SVC flow at 6 and 12 hours respectively ($r = 0.45$, p -value 0.04 and $r = 0.67$, p -value 0.001 respectively). RVO also correlated with SVC flow at 6 and 12 hours ($r = 0.44$, p -value 0.04 and $r = 0.71$, p -value 0.0003). Mean blood pressure increased during the study period from 33 mmHg at 6 hours to 40 mmHg at 48 hours ($p = 0.02$). All infants had a patent ductus arteriosus present at 6 hours of age, with 3 infants closing the duct at the 48 hours evaluation. There was

no correlation between cTOI and pulse oximetry values at any given time point. There were no differences in SVC flow or cTOI values between infants with haemorrhage/death and infants without serious complications. Outcome of infants with low SVC flow (<41 ml/kg/min) was not different from outcome of infants with values in normal range, a reflection of the small sample size.

4. Discussion

Previous studies have shown that cerebral oxygen delivery increases during the first days after delivery. Meek described an increase in cerebral blood flow using NIRS in the first few days of life [13] and others have shown increasing cerebral tissue oxygenation values during first 72 hours of life in preterm infants [5]. cFTOE decreases during this time period [14]. However, a more recent study by Takami et al. [15] has questioned these previous findings. They identified a decrease in cTOI in the first 12 hours of life in a cohort of 16 extremely low birth weight infants. We identified a decrease in cTOI from 6 to 12 hours of age in a similar cohort of immature babies. These changes were accompanied by a reciprocal increase in cFTOE at 12 hours of age. We suggest that these changes reflect alteration in the cerebral circulation in the extreme preterm infant during this transitional period, whereby cerebral oxygen delivery appears to decrease between six and twelve hours. This time period may represent a critical period whereby brain injury occurs, and clinical studies aimed at intervention to improve cerebral tissue oxygenation during this time period are now warranted and are underway [16].

Mean values of cTOI are comparable with previously published studies [5,15]. Despite significant changes of cTOI, values remain stable and there were no infants with very high or low oxygenation index in our group and thus our results most likely represent normal values for this population measured by NIRO-200. Sorensen et al. described normative data for comparable group measured with NIRO-300 [17] (higher than our values), however normative data for NIRO-200 have not been published yet.

We have shown that SVC flow increases during the first 48 hours of age and although this increase did not reach statistical significance, the trend is clearly present and in agreement with previous studies [18,19]. We did identify a higher incidence of low SVC flow compared to previous studies [1,7,20]. There are a few possible explanations for this finding. SVC flow positively correlates with gestational age in the first 24 hours [1] and we explored these changes in a cohort of more immature babies than previous studies. We included all babies, some of whom required a significant amount of cardio respiratory support. More frequent measurements were performed, thereby increasing the likelihood of identifying lower flow states, especially in the first

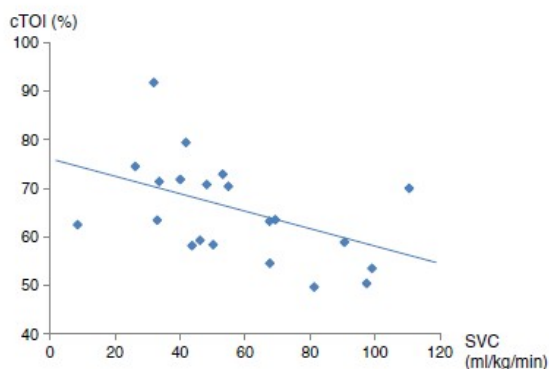


Fig. 1. Correlation between SVC flow and cTOI at 6 hours of age.

Please cite this article as: Sirc J, et al, Cerebral tissue oxygenation index, cardiac output and superior vena cava flow in infants with birth weight less than 1250 grams in the first 48 hours of life, Early Hum Dev (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2013.04.004>

18 hours. The greatest incidence of low SVC flow in this cohort was in the first 12 hours of age, when most hemodynamic instability occurs. Despite the presence of a patent ductus arteriosus and persistent foramen ovale, our measurements of cardiac output (LVO and RVO) correlated with SVC flow measurements within first 12 hours of age, suggesting that flow across these structures, in particular the ductus, may not have been significant to alter systemic parameters at this time. Whilst we did not definitively measure pulmonary pressures, it is likely that they remained elevated during this time period [21] and would explain the good correlation.

Previous studies have shown evidence of a positive correlation between cTOI and SVC flow [8,14], suggestive of a pressure passive brain circulation. These two previous studies identified a weak positive correlation within first 24 hours of age. However, we found no correlation between SVC flow and cTOI at 12, 24 and 48 hours of age in this cohort and to the contrary, found evidence of a negative correlation at 6 hours of age. One possible explanation for the lack of correlation is that SVC flow is a poor surrogate estimate of cerebral blood flow in more immature newborns. The SVC is formed from the right and left brachiocephalic veins. Drainage from the venous sinuses terminates into the internal jugular veins, which also receive blood flow from the facial and superficial temporal veins. The external jugular vein also joins subclavian and the internal jugular then unites with the subclavian vein to form the brachiocephalic vein. Therefore the SVC receives a combination of blood flow from upper limbs, the upper body, head and neck vessels and brain, and is a reflection of overall upper body systemic blood flow rather than cerebral blood flow. The previous positive correlations identified between SVC and cTOI may be a result of the relationship between two rather inexact measurements. However, an association does exist between low SVC flow and brain injury [1,7], similar to the relationship that exists between blood pressure and brain injury [22]. We did not confirm these findings in our cohort. Future studies involving utilisation of both flow measurements and NIRS assessment of cerebral oxygenation in babies at greatest risk of brain injury are required.

We recognize that there are some limitations to our study. Up to 20% of our cohort received cardiovascular support with a possible influence on cardiac output and brain oxygenation. Different modes of ventilation were used, including high frequency oscillation, which can influence cardiac output measurements [1]. Measurements were done at given time points and possible hemodynamic changes between them would not be detected. Whilst the overall number of patients is low, this study represents one of the largest cohorts of extreme preterm infants evaluating both these parameters [15].

In summary SVC flow, left and right ventricular increased during first 48 hours of life whilst cTOI decreased at 12 hours of age in a cohort of preterm babies less than 28 weeks. There was a negative correlation between cTOI and SVC flow at 6 hours of life.

Conflicts of interest

None declared.

References

- [1] Kluckow M, Evans N. Low superior vena cava flow and intraventricular haemorrhage in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000;82:188–94.
- [2] Osborn DA, Evans N, Kluckow M. Hemodynamics and antecedent risk factors of early and late periventricular/intraventricular hemorrhagic in preterm infants. *Pediatrics* Jul 2003;112(1 Pt 1):33–9.
- [3] Kurth CD, Levy WJ, McCann J. Near-infrared spectroscopy cerebral oxygen saturation thresholds for hypoxia-ischemia in piglets. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;22:335–41.
- [4] Pollard V, Prough DS, DeMelo AE, Deyo DJ, Uchida T, Stoddart HF. Validation in volunteers of a near-infrared spectroscopy for monitoring brain oxygenation in vivo. *Anesth Analg* 1996;82:269–77.
- [5] Naulaers G, Morren G, Van Huffel S, Casaer P, Devlieger H. Measurements of tissue oxygenation index during the first three days in premature born infants. *Adv Exp Med Biol* 2003;510:379–83.
- [6] Drayton MR, Skidmore R. Vasoactivity of the major intracranial arteries in newborn infants. *Arch Dis Child* 1987;62:236–40.
- [7] Miletin J, Dempsey EM. Low superior vena cava flow on day 1 and adverse outcome in the very low birthweight infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008;93:368–71.
- [8] Moran M, Miletin J, Pichova K, Dempsey EM. Cerebral tissue oxygenation index and superior vena cava blood flow in the very low birth weight infant. *Acta Paediatr Jan* 2009;98(1):43–6.
- [9] Kluckow M, Evans N. Superior vena cava flow. A novel marker of systemic blood flow. *Arch Dis Child* 2000;82:182–7.
- [10] Evans N, Kluckow M. Early determinants of right and left ventricular output in ventilated preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996;74:88–94.
- [11] Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* Apr 1978;92(4):529–34.
- [12] de Vries LS, Eken P, Dubowitz LMS. The spectrum of leucomalacia using cranial ultrasound. *Behav Brain Res* 1992;49:1–6.
- [13] Meek JH, Tyszczuk L, Elwell CE, Wyatt JS. Cerebral blood flow increases over the first three days of life in extremely preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;78:33–7.
- [14] Kissack CM, Garr R, Wardle SP, Weindling AM. Cerebral fraction oxygen extraction in very low birth weight infant is high when there is low left ventricular output and hypocarbia but is unaffected by hypotension. *Pediatr Res* 2004;55:400–5.
- [15] Takami T, Sunohara D, Kondo A, Mizukaki N, Suganami Y, Takei Y, et al. Changes in cerebral perfusion in extremely LBW infants during the first 72 h after birth. *Pediatr Res Nov* 2010;68(5):435–9.
- [16] Hyttel-Sørensen S, Austin T, van Bel F, Benders M, Claris O, Dempsey EM, et al. Clinical use of cerebral oximetry in extremely preterm infants is feasible. *Dan Med J Jan* 2013;60(1):A4533.
- [17] Sørensen LC, Leung TS, Greisen G. Comparison of cerebral oxygen saturation in premature infants by near-infrared spatially resolved spectroscopy: observations on probe-dependent bias. *J Biomed Opt Nov-Dec* 2008;13(6):064013.
- [18] de Boode WP. Cardiac output monitoring in newborns. *Early Hum Dev Mar* 2010;86(3):143–8.
- [19] de Boode WP. Clinical monitoring of systemic hemodynamics in critically ill newborns. *Early Hum Dev Mar* 2010;86(3):137–41.
- [20] Groves AM, Kuschel CA, Knight DB, Skinner JR. Echocardiographic assessment of blood flow volume in the superior vena cava and descending aorta in the newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed Jan* 2008;93(1):F24–8.
- [21] Emmanouilides GC, Moss AJ, Duffie Jr ER, Adams FH. Pulmonary arterial pressure changes in human newborn infants from birth to 3 days of age. *J Pediatr* 1964;65:327–33.
- [22] Miall-Allen VM, de Vries LS, Whitelaw AG. Mean arterial blood pressure and neonatal cerebral lesions. *Arch Dis Child* 1987;62:1068–9.

5.3. Možnosti N-terminal pro-brain natriuretického peptidu v predikci signifikantní otevřené tepenné dučeje u nedonošených novorozenců po prvním týdnu života

Brain natriuretic peptide (BNP) je vazoregulační peptid vylučovaný myokardem komor při přetížení srdce (40). U novorozenců může dojít k objemovému přetížení při zkratu otevřenou tepennou dučejí. BNP vzniká štěpením inaktivního prekursoru ProBNP, vedlejším produktem je inaktivní N-Terminal proBNP (NT-proBNP). Ten má delší biologický poločas oproti BNP (60-120 min versus 20 min) a je tedy vhodnější pro klinické použití (41). Řada studií popsala možnosti predikce uzavření PDA pomocí BNP nebo NT-proBNP během prvního týdne po narození (42,43). U více než 30% novorozenců narozených před 32. gestačním týdnem se tepenná dučej neuzavře (44). Diagnostika perzistující otevřené tepenné dučeje je snadná pomocí echokardiografie, důležitou úlohu hraje klinický stav a biochemické markery. Chybí ovšem mezinárodně uznávaná klasifikace a definice hemodynamicky signifikantního PDA (hsPDA) i přes snahu některých autorů (45). Terapie PDA je farmakologická pomocí ibuprofenu a indomethacinu, nebo chirurgická ligace v případě selhání farmakologické. Léčba má však řadu nežádoucích účinků (46,47) a nezlepšuje psychomotorický vývoj (48). Konzervativní postup s restrikcí tekutin a úpravou ventilačního režimu nebo observační přístup je další možností v managementu PDA (49,14).

Cílem studie je popis vztahů mezi velikostí otevřené tepenné dučeje a NT-proBNP u novorozenců s porodní váhou pod 1500 gramů od 2. týdne života do uzávěru dučeje nebo do propuštění domů.

Metodika

Do této prospektivní observační studie byli zařazeni novorozenci s porodní hmotností pod 1500 gramů bez závažné vrozené vady, kteří 7. den života měli otevřenou tepennou dučej a rodiče podepsali informovaný souhlas.

Echokardiografie se prováděla na přístroji Philips HD11XE se sektorovou sondou S12-4. Při prvním vyšetření byla vyloučena srdeční vada. Součástí všech vyšetření byly parametry velikosti PDA - průměr, směr toku krve v PDA, poměr levé síně k aortě (LA/Ao)(50), poměr průměru PDA k levé plicní arterii (PDA/LPA)(51) a eventuální end-diastolický reverzní tok v truncus coeliacus (52). Průměr 2 mm byl zvolen jako hranice významné dučeje dle Skinnera (53). Novorozenci s PDA měli echokardiografické vyšetření každý týden do uzávěru PDA nebo do propuštění. Současně byla odebrána krev na NT-proBNP, která se analyzovala elektrochemiluminiscenční imunoassay na přístroji Cobas e411. Rozhodnutí o léčbě záviselo na ošetřujícím lékaři, ale přístup byl většinou observační.

Ke statistické analýze byl použit nepárový t-test, Mann-Whitney U test, Fisherův exaktní test, Pearsonův korelační koeficient a ROC křivka ve statistickém softwaru StatsDirect verze 2.7.8. (StatsDirect Ltd, Altrincham, UK).

Výsledky

69 dětí bylo zařazeno do studie. 5 nespĺňovalo vstupní kritéria (2 x nepodepsaný inf. souhlas, 2 x srdeční vada, 1 x trisomie 21. chromosomu). 49% novorozenců mělo PDA 7.den života. Tito děti měli signifikantně menší porodní hmotnost, gestační stáří, byli častěji na umělé plicní ventilaci a oxygenoterapii 28. den. NT-proBNP dětí s PDA bylo signifikantně vyšší 7. a 14. den oproti dětem s uzavřenou dučejí. Rozdíl byl významný i 21. den mezi dětmi s PDA nad 2 mm a bez PDA. V subanalýze jsme rozdělili kohortu na novorozence narození pod a nad 28. gestační týden (hranice těžké a střední nezralosti). Jediný statisticky signifikantní rozdíl byl 7. den, kdy novorozenci pod 28. týden měli vyšší NT-proBNP (27739 vs 11558 ng/l). NT-proBNP nekoreloval s jinými měřenými parametry PDA.

NT-proBNP korelovalo s průměrem PDA první 3 týdny. Počet novorozenců s PDA klesal každým týdnem. Malý počet případů s PDA je možným důvodem proč hodnoty nekorelovaly po třetím týdnu. 1 dítě s PDA bylo propuštěno a 1 přeloženo na jiné pracoviště. 1 dítě zemřelo na nekrotizující enterokolitidu.

Diskuze

V námi popsané skupině měli novorozenci s PDA signifikantně vyšší NT-proBNP 7. a 14. den života ale ne 21. den. V třetím týdnu byl rozdíl signifikantní u dětí s PDA nad 2 mm. Po třetím týdnu rozdíly nebyly signifikantní, což bylo nejspíše dáno malým počtem pacientů. NT-proBNP je tedy použitelný jako marker hemodynamicky signifikantního PDA po prvním týdnu. Dosud publikované studie se výrazně lišily v hladině NT-proBNP nebo BNP diagnostikující hemodynamicky signifikantní PDA (13,54,55). Mezikvartilové rozpětí NT-proBNP pro novorozence bez PDA v naší skupině pacientů 7. den je 649-2524 ng/l a tato hodnota lze použít jako referenční rozmezí. Jedná se o pacienty u kterých se uzavřela dučej do 7. dne. Oproti předchozím studiím jsme neprokázali korelaci ostatních parametrů významnosti PDA s NT-proBNP.

I přes konzervativní a observační přístup k managementu tepenné dučeje došlo až na jeden případ ke spontánnímu uzávěru PDA. Jen 5 novorozenců bylo léčeno Ibuprofenem. Incidence nejčastějších závažných morbidit (intraventrikulární krvácení, bronchopulmonální dysplázie, nekrotizující enterokolitida, retinopatie z nedonošenosti a smrt) je srovnatelná s mezinárodní databází Vermont-Oxford (56).

Navzdory korelaci průměru PDA a NT-proBNP zůstává definice hemodynamicky závažného PDA nejasná. Při rozhodování o managementu PDA je potřeba posoudit echokardiografické parametry,

klinický stav pacienta a opakované hodnoty NT-proBNP. I vysoké hodnoty NT-proBNP vyšetřené izolovaně bez dalších znalostí nevypovídají o hemodynamicky signifikantní otevřené tepenné dučejí.

Serial N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement as a predictor of significant patent ductus arteriosus in preterm infants beyond the first week of life

Johannes Buca Letshwiti · Jan Sirc · Ruth O'Kelly · Jan Miletin

Received: 13 February 2014 / Revised: 24 May 2014 / Accepted: 26 May 2014
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014

Abstract The aim of the study was to assess the role of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) concentration as a predictor of patent ductus arteriosus (PDA) in very low birth weight infants beyond the first week of life. This was a prospective observational study; newborns with a birth weight < 1500 g were eligible for enrolment. Enrolled infants were screened by echocardiography on day seven of life for the presence of a PDA. This was paired with a blood sample for NT-proBNP level. Echocardiography and NT-proBNP levels were repeated at weekly intervals. The primary outcome was correlation between PDA and NT-proBNP level and between measurements of PDA significance and NT-proBNP. Sixty-nine neonates were enrolled following parental consent. The mean birth weight was 1119±257 g and mean gestational age was 28.6 ±2.6 weeks. Median NT-proBNP level on day seven was 11469 ng/l in infants with a PDA vs. 898 ng/l in infants without

a PDA ($p < 0.0001$). There was a statistically significant correlation between PDA diameter and NT-proBNP level on day seven, day 14 and day 21. **Conclusion:** NT-proBNP concentration is significantly increased in infants with a PDA and correlates well with PDA diameter in the first three weeks of life.

Key words N-terminal pro-brain natriuretic peptide · Patent ductus arteriosus · Prematurity · Very low birth weight infant

Abbreviations

BPD	bronchopulmonary dysplasia
BNP	B-type natriuretic peptide
ECLIA	Electrochemiluminescence Immunoassay
hsPDA	haemodynamically significant PDA
IVH	intraventricular haemorrhage
LA/Ao	Left Atrium to Aorta ratio
PDA/LPA	PDA to Left Pulmonary Artery ratio
NEC	necrotising enterocolitis
NT-proBNP	N-terminal pro-brain natriuretic peptide
PDA	patent ductus arteriosus
PEEP	positive end expiratory pressure
ROC	receiver operator characteristic
ROP	retinopathy of prematurity
VLBW	very low birth weight

Communicated by Patrick Van Reempts

J. B. Letshwiti · J. Sirc · J. Miletin
Neonatal Intensive Care Unit, Coombe Women and Infants
University Hospital, Dublin, Ireland

J. B. Letshwiti
e-mail: jletshwiti@yahoo.co.uk

J. Sirc
e-mail: sircik@seznam.cz

J. Sirc · J. Miletin
Neonatal Intensive Care Unit, Institute for the Care of Mother and
Child, Prague, Czech Republic

R. O'Kelly
Biochemistry Department, Coombe Women and Infants University
Hospital, Dublin, Ireland
e-mail: rokelly@coombe.ie

J. Miletin (✉)
Department of Paediatrics, UCD School of Medicine and Medical
Sciences, Dublin, Ireland
e-mail: miletinj@yahoo.com

Introduction

B-type natriuretic peptide (BNP) is a vasoregulatory peptide that is synthesised and secreted by the ventricular myocardium in response to pressure or volume overload [5]. In premature infants, its release may be related to volume overload from a patent ductus arteriosus (PDA) [1]. ProBNP, the inactive precursor, is cleaved into BNP

and N-terminal proBNP (NT-proBNP), the remaining by-product. NT-proBNP has a longer half-life than BNP (60 to 120 minutes vs. 20 minutes) and is therefore preferred for clinical use [24]. Natriuretic peptides are cleared from plasma by binding to the natriuretic peptide receptors, but also through proteolysis by peptidases. Renal excretion is currently regarded as its main clearance mechanism.[11] Several studies have examined whether BNP or NT-proBNP concentrations predict the presence of a PDA or its response to therapy [10, 4, 19]. A more recent study evaluated whether BNP or NT-proBNP concentrations could be used to guide the duration of indomethacin treatment for a PDA [1].

More than 30 % of preterm infants born before 32 weeks of gestation have a PDA that fails to close after birth [3]. The definition of a haemodynamically significant PDA (hsPDA) in very low birth weight (VLBW) infants remains contentious. Echocardiography remains the gold standard for the diagnosis of a PDA but the parameters that define a hsPDA remain unclear, although scoring systems have been proposed previously [14, 21]. Clinical and echocardiography criteria are used in the definition of a hsPDA. The clinical criteria include respiratory signs (increased respiratory support, inability to wean ventilatory support or oxygen requirements), physical signs (heart murmur, hyperdynamic praecordium, bounding pulses), blood pressure problems (decreased mean or diastolic pressure) and signs of congestive heart failure (cardiomegaly, hepatomegaly, pulmonary congestion).[25] The echocardiography criteria include ductal diameter, left heart dimensions (most used left atrium to Aorta ratio), Doppler parameters (ductal flow, reversed flow in abdominal arteries, turbulence in the main pulmonary artery) and assessment of the left to right shunting.[25] Unfortunately an international consensus on the definition of a hsPDA is still lacking.

Medical treatment with either ibuprofen or indomethacin, and surgical closure with PDA ligation, have been the mainstay in the management of PDA. All these treatments have recognised side effects and careful assessment of which babies may require treatment is vital. Ibuprofen has been shown to be associated with fewer side effects than indomethacin.[16, 22] Conservative treatment with fluid restriction and adjustment of ventilation was described as a feasible option.[23] Timing of the PDA treatment varies from prophylactic treatment to early targeted treatment to late (symptomatic) treatment. Indomethacin prophylaxis is associated with a reduced risk of intraventricular haemorrhage (IVH) or IVH greater than grade II, but this does not result in better long-term neurodevelopmental outcomes.[2] A recent trial of the early targeted approach showed a decreased incidence of early pulmonary haemorrhage.[13].

A plasma NT-proBNP level is a highly sensitive and specific indicator of a hsPDA in a preterm infant [9] and can easily be measured at the bedside. It has been proposed as a

complementary, or perhaps even as an alternative to echocardiography to help define a hsPDA. BNP and NT-proBNP use in neonates for the diagnosis and monitoring of a PDA has been extensively examined during the first week of life in almost all of the previous studies. We aimed to ascertain the role of NT-proBNP concentration as a predictor of a hsPDA, beyond the first week of life.

Methods

This was a single-centre prospective observational study carried out in the Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Ireland. All infants with a birth weight less than 1500 g born between April 2010 and February 2011 were eligible for enrolment. Newborns with congenital heart disease or major congenital malformations were excluded. The protocol for the study was approved by the institutional research ethics committee. Written informed consent was obtained from parents of eligible infants. VLBW neonates enrolled in the study were initially screened on day seven of life and those with a PDA were subsequently followed up weekly until the PDA closed or the patient was discharged.

Measurements

Functional echocardiography was performed on day seven of life using a Philips HD11XE ultrasound scanner with sector array transducer (8 to 12 MHz) incorporating colour flow, pulse wave and continuous wave Doppler with adaptive Doppler technology. All scans were performed by one of two operators (JS, JM), trained in neonatal functional echocardiography. Normal anatomy of the heart was established and specific measurements relating to the significance of the patent ductus arteriosus were performed. These included PDA diameter (measured at the narrowest point using Doppler technique, the 2 mm cut off was chosen based on the grading by Skinner et al. where a 2 mm PDA represents a large duct [21]), PDA flow direction, Left Atrium to Aorta ratio (LA/Ao)[20], PDA to Left Pulmonary Artery ratio (PDA/LPA)[18] and flow in the Celiac Artery with possible end diastolic steal[7]. Infants with a PDA had further echocardiography weekly until the PDA closed or until discharge (if the PDA was still present at discharge). These follow up echocardiography studies included PDA evaluation as described above.

All echocardiograms were paired with serum NT-proBNP samples which were collected in an EDTA tube at the time of imaging. NT-proBNP samples were immediately assessed on reaching the laboratory to facilitate repeat of unsuitable samples. Analysis was performed in an external laboratory (St

James's Hospital, Dublin, Ireland) and NT-proBNP levels were measured by Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) using Cobas e Analyser (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany). The NT-proBNP tests were run singly and the measurable range for NT-proBNP was 5 - 35000 ng/L.

Results of the echocardiography were available to the attending physicians. The decision to treat the PDA in all cases was at the discretion of the consultant neonatologist responsible for the infant, but the overall approach was conservative.

Clinical parameters

Need for mechanical ventilation, full course of antenatal steroids for lung maturation and Apgar scores were recorded for all infants enrolled in the study.

Outcomes

Our primary outcome was correlation between PDA and NT-proBNP concentration and between measurements of PDA significance and NT-proBNP. The secondary outcomes included IVH, bronchopulmonary dysplasia (BPD), necrotising enterocolitis (NEC), retinopathy of prematurity (ROP) and death. We also documented any medical or surgical treatment of the PDA.

Data were analyzed with a PC based statistics package (StatsDirect version 2.7.8) using Fisher's exact test, unpaired t-test, Mann-Whitney U test, Pearson's correlation and ROC curves as appropriate. $P < 0.05$ was accepted as significant.

Results

There were 74 VLBW infants born during the study period with 69 infants included in the final analysis (Fig. 1). The characteristics of the study population with secondary outcomes are presented in Table 1. Almost half of the babies had a PDA at the end of the first week of life. We compared infants diagnosed with a PDA on day seven with infants with a closed ductus; infants with a PDA had a significantly lower birth weight and gestational age, higher need for mechanical ventilation and higher risk of oxygen/respiratory requirements at day 28 of life (Table 1).

When we analysed all infants with a PDA, the NT-proBNP level was significantly higher on days seven and 14, but not on day 21 in those with a PDA when compared to those without one. However in those infants with a PDA diameter greater than 2 mm the NT-proBNP level was significantly higher on day seven, day 14 and also on day 21. The receiver-operator-characteristic (ROC) curves were constructed and are summarised together with our primary outcomes in Table 2.

We performed sub analysis for two different gestational groups. For the purpose of this sub analysis we divided our cohort into infants less than 28+0 weeks of gestation and infants from 28+0 weeks of gestation on. The only statistically significant difference was between infants with a PDA more than 2 mm on day seven of life, where infants over 28 weeks of gestation produced higher levels of NT-proBNP (median 27 739 ng/l vs. 11 558 ng/l; $p = 0.05$). There were no other differences between the groups in the first three weeks.

NT-proBNP levels correlated well with PDA diameter measurements during the first three weeks of life (p -values 0.0007, 0.03 and 0.03 for weeks one, two and three, respectively). The number of infants with an open PDA declined every week and this may therefore explain the lack of this correlation beyond the third week. We did not observe any significant correlation between NT-proBNP measurements and either PDA/LPA or LA/Ao ratios (Table 3).

The median concentration of NT-proBNP for infants receiving Ibuprofen for a PDA was 13 983 ng/l (interquartile range 11 469 - 19358) at the time of treatment.

Of all the infants diagnosed with a PDA on day seven only one had a PDA which had failed to close prior to discharge, despite limited interventions. That infant had a small PDA less than 1 mm in diameter with a NT-proBNP of less than 1000 ng/l at discharge. Another infant was transferred to a different hospital with a small PDA. There was one death in our cohort. The cause-of-death was perforated necrotising enterocolitis with multi organ failure syndrome. This infant had a PDA of 2.6 mm on day seven of life and 2.64 mm on day 14 of life. NT-proBNP for this patient was 15331 ng/l on day seven of life and 19358 ng/l on day 14. This patient received Ibuprofen for the treatment of the PDA.

Discussion

In our study NT-proBNP levels were significantly higher in the group of preterm neonates with any PDA on day seven and 14 but not day 21. This observation is not surprising as many

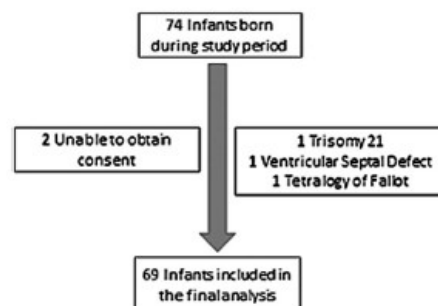


Fig. 1 Diagram of the study enrolment

Table 1 Demographics and secondary outcomes

	Enrolled cohort n=69	PDA Day 7 n=34	No PDA Day 7 n=35	p
Birth Weight – mean (\pm SD)	1119 (257)	1010 (253)	1225 (212)	0.0004
Gestational Age – mean (\pm SD)	28.6 (2.6)	27.4 (2.7)	29.8 (1.9)	< 0.0001
Gender – female (%)	36 (52)	18 (53)	18 (51)	NS
Full course of antenatal steroids – cases (%)	53 (77)	25 (74)	28 (80)	NS
Apgar scores 1 min median (range)	6 (1 – 9)	6 (1 – 9)	6 (2 – 9)	NS
Apgar scores 5 min median (range)	9 (3 – 10)	9 (3 – 10)	9 (6 – 10)	NS
Need for mechanical ventilation – cases (%)	32 (46)	23 (68)	9 (26)	0.0006
IVH Grade III-IV – cases (%)	3 (4)	3 (9)	0 (0)	NS
CLD (28 days) – cases (%)	21 (30)	17 (50)	4 (11)	0.0006
CLD (36/40) – cases (%)	7 (10)	6 (18)	1 (3)	0.055
NEC IIA or more – cases (%)	3 (4)	2 (6)	1 (3)	NS
ROP III/Laser – cases (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NS
Ibuprofen – cases (%)	5 (7)	5 (15)	0 (0)	0.03
Ligation – cases (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NS
Mortality – cases (%)	1 (1)	1 (3)	0 (0)	NS

infants have small, haemodynamically insignificant PDAs at that stage. Infants with a PDA diameter of more than 2 mm on echocardiography, however, had significantly higher levels of NT-proBNP on day seven, 14 and 21, suggesting a good correlation between NT-proBNP levels and a potentially haemodynamically significant PDA beyond the first week of life. Previously published data on NT-proBNP cut-off values to identify a haemodynamically significant PDA vary widely throughout the literature [9, 15, 17, 19, 8] and have been performed within the first week of life. At the presented cut-off points, NT-proBNP performed well as a sensitive tool to identify a PDA with a diameter more than 2 mm, confirming the usefulness of NT-proBNP as a good marker to follow the evolution or resolution of a PDA. The interquartile range of NT-proBNP level among non-PDA infants at initial screening (day seven) in our study was 649 ng/l to 2524 ng/l. This represents babies who had never had a PDA or those who had a PDA which had closed by the end of the first week of life. These values might represent useful reference ranges for NT-proBNP levels at day seven of life.

Previous studies have demonstrated a correlation between NT-proBNP and/or BNP and ductal size, LA/Ao and magnitude of shunting [6, 8]. We demonstrated a significant correlation between NT-proBNP and ductal diameter in the first 21 days of life. In fact, the same trend was observed in most of the weeks, however probably as a result of the small sample size, the results did not reach statistical significance. Rather surprisingly, we did not confirm any correlation between LA/Ao ratio and NT-proBNP. We also used one of the newly suggested markers of ductal significance, PDA/LPA ratio; again we did not find any significant correlation. We hypothesise that this was a reflection of our conservative

therapy, mainly restriction of fluid intake when the presence of a PDA was confirmed. With this approach we observed a very low rate of Ibuprofen use and in fact PDA ligation was not required in any of our cohort. Reassuringly, our short term secondary outcomes are comparable to Vermont-Oxford Database results, even in the PDA group.[12] A conservative management approach to PDA was shown to be feasible management in a small prospective study of Vanhaesebrouck et al.. This included adjustment of ventilation parameters (inspiratory time as low as 0.35 sec and positive end expiratory pressure (PEEP) as high as 4.5 mbar) and fluid restriction (130 ml/kg/day beyond day 3).[23] We used a very similar approach with fluid restriction to 130 to 140 ml/kg/day. In infants on mechanical ventilation we used short inspiratory times (0.35 sec) and PEEP between 4 and 6 cm of H₂O according to the clinical situation. We also used non-invasive forms of ventilation (nasal continuous positive airway pressure - nCPAP) with PEEP for infants with moderate to large PDAs where feasible. We did not encounter any problems with diuresis in fluid restricted patients.

Despite the correlation between PDA diameter and NT-proBNP level, the definition of a haemodynamically significant PDA remains contentious in neonatology. Very high levels of NT-proBNP, proved unhelpful at times when taken in isolation, in deciding the optimal management of a PDA during the study period. Serial NT-proBNP measurements and following the trend of these values (rather than absolute numbers) seemed helpful in addition to the trend of echocardiographic markers of ductal significance. A combination of these with the clinical condition of the neonate might be useful in determining a haemodynamically significant PDA which may be considered for treatment after the first week of life.

Table 2 NT-ProBNP measurements in the first three weeks of life – infants with PDA present vs. infants with no PDA and infants with PDA > 2 mm vs. infants with PDA ≤ 2 mm or no PDA present; ROC curves constructed. (1 infant with PDA was transferred between week 1 and week 2, 1 infant with PDA died between week 2 and 3)

	PDA	No PDA	p	ROC Threshold Sensitivity Specificity Area under ROC curve
Week 1 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	11 469 (2971 – 19299) n=33*	898 (649 – 2524) n=35	< 0.0001	2507 85 % 74 % 0.86
Week 2 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	6041 (2402 – 13594) n=27	1350 (717 – 1851) n=5**	0.005	2402 78 % 100 % 0.88
Week 3 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	3165.5 (1342 – 9330.5) n=20***	945 (876 – 1763) n=5	0.34	2076 65 % 80 % 0.65
	PDA > 2 mm	No PDA or PDA ≤ 2 mm		
Week 1 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	14500.5 (8498.5 – 29293) n=20	1034 (709 – 3091) n=48	< 0.0001	3587 100 % 79 % 0.93
Week 2 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	8406 (3314 – 19358) n=18	1633 (717 – 2777) n=14	< 0.0001	2402 94 % 71 % 0.90
Week 3 NT-proBNP median (interquartile ranges) number of infants (ng/l)	7270 (3587 – 10937) n=13	1068 (581 – 1661) n=12	0.0008	2076 92 % 83 % 0.88

* 34 infants diagnosed with PDA, 1 NT-proBNP measurement missing
 ** 6 infants diagnosed with no PDA, 1 NT-proBNP measurement missing
 *** 21 infants diagnosed with PDA, 1 NT-proBNP measurement missing

Serial NT-proBNP measurements would also be helpful in neonatal units where functional echocardiography is not readily available.

There are some limitations to our study. The diameter chosen (2 mm) as a marker of a large PDA is somewhat artificial and the haemodynamic significance could differ in

Table 3 Correlation coefficient between NT-proBNP and Diameter, LA/Ao ratio and ratio of PDA/LPA in infants with diagnosed PDA

	Diameter	p	La/Ao	p	LPA/PDA	p
Week 1 NT-proBNP - r ²	0.32	0.0007	0.01	0.57	0.01	0.57
Week 2 NT-proBNP - r ²	0.17	0.03	0.05	0.26	0.06	0.23
Week 3 NT-proBNP - r ²	0.23	0.03	0.11	0.15	0.18	0.06
Week 4 NT-proBNP - r ²	0.12	0.18	0.0002	0.96	0.005	0.79
Week 5 NT-proBNP - r ²	0.22	0.09	0.009	0.74	0.1	0.3
Week 6 NT-proBNP - r ²	0.41	0.03	0.0002	0.97	0.02	0.67
Week 7 NT-proBNP - r ²	0.32	0.07	0.01	0.74	0.05	0.53
Week 8 NT-proBNP - r ²	0.51	0.03	0.54	0.02	0.35	0.09
Week 9 NT-proBNP - r ²	0.23	0.41	0.35	0.3	0.24	0.4

different weight categories. PDA measurement by echocardiography used in the study is a standard measurement described in the literature, however this measurement definitely has limitations and intra and inter observer variability, that we did not test for.

In conclusion, NT-proBNP levels correlate well with PDA diameter during the first three weeks of life and the levels are also significantly higher among patients with a PDA larger than 2 mm compared with those without a PDA or with a PDA less than 2 mm. The failure to demonstrate a significant correlation of this biochemical marker with PDA presence in subsequent weeks may be explained by the diminishing number of patients with a PDA with each passing week.

Conflict of interests Authors have no conflict of interest. This study was not supported or sponsored by any manufacturer or industrial body.

References

1. Attridge JT, Kaufman DA, Lim DS (2009) B-type natriuretic peptide concentrations to guide treatment of patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 94(3):F178–F182. doi:10.1136/adc.2008.147587
2. Benitz WE (2011) Learning to live with patency of the ductus arteriosus in preterm infants. *J Perinatol: official J Calif Perinatal Association* 31(Suppl 1):S42–S48. doi:10.1038/jp.2010.175
3. Chen S, Tacy T, Clyman R (2010) How useful are B-type natriuretic peptide measurements for monitoring changes in patent ductus arteriosus shunt magnitude? *J Perinatol: official J Calif Perinatal Association* 30(12):780–785. doi:10.1038/jp.2010.47
4. Choi BM, Lee KH, Eun BL, Yoo KH, Hong YS, Son CS, Lee JW (2005) Utility of rapid B-type natriuretic peptide assay for diagnosis of symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Pediatrics* 115(3):e255–e261. doi:10.1542/peds.2004-1837
5. Costello JM, Goodman DM, Green TP (2006) A review of the natriuretic hormone system's diagnostic and therapeutic potential in critically ill children. *Pediatric Critical Care Medicine: J Society of Critical Care Medicine World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies* 7(4):308–318. doi:10.1097/01.PCC.0000224998.97784.A3
6. Czernik C, Lemmer J, Metzke B, Koehne PS, Mueller C, Obladen M (2008) B-type natriuretic peptide to predict ductus intervention in infants <28 weeks. *Pediatr Res* 64(3):286–290. doi:10.1203/PDR.0b013e3181799594
7. El-Khuffash A, Higgins M, Walsh K, Molloy EJ (2008) Quantitative assessment of the degree of ductal steal using celiac artery blood flow to left ventricular output ratio in preterm infants. *Neonatology* 93(3):206–212. doi:10.1159/000110869
8. El-Khuffash AF, Amoroso M, Culliton M, Molloy EJ (2007) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a marker of ductal haemodynamic significance in preterm infants: a prospective observational study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 92(5):F421–F422. doi:10.1136/adc.2007.119701
9. Farombi-Oghuvbu I, Matthews T, Mayne PD, Guerin H, Corcoran JD (2008) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: a measure of significant patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 93(4):F257–F260. doi:10.1136/adc.2007.120691
10. Flynn PA, da Graca RL, Auld PA, Nesin M, Kleinman CS (2005) The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J Pediatr* 147(1):38–42. doi:10.1016/j.jpeds.2005.03.040
11. Hall C (2004) Essential biochemistry and physiology of (NT-pro)BNP. *Eur J Heart Fail* 6(3):257–260. doi:10.1016/j.ejheart.2003.12.015
12. Horbar JD, Carpenter JH, Badger GJ, Kenny MJ, Soll RF, Morrow KA, Buzas JS (2012) Mortality and Neonatal Morbidity Among Infants 501 to 1500 Grams From 2000 to 2009. *Pediatrics* 129(6):1019–1026. doi:10.1542/peds.2011-3028
13. Kluckow M, Jeffery M, Gill A, Evans N (2014) A randomised placebo-controlled trial of early treatment of the patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 99(2):F99–F104. doi:10.1136/archdischild-2013-304695
14. McNamara PJ, Sehgal A (2007) Towards rational management of the patent ductus arteriosus: the need for disease staging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 92(6):F424–F427. doi:10.1136/adc.2007.118117
15. Nuntarumit P, Khositseth A, Thanomsingh P (2009) N-terminal pro-brain natriuretic peptide and patent ductus arteriosus in preterm infants. *J Perinatol: official J Calif Perinatal Association* 29(2):137–142. doi:10.1038/jp.2008.185
16. Ohlsson A, Walia R, Shah SS (2013) Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 4, CD003481. doi:10.1002/14651858.CD003481.pub5
17. Ramakrishnan S, Heung YM, Round J, Morris TP, Collinson P, Williams AF (2009) Early N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurements predict clinically significant ductus arteriosus in preterm infants. *Acta Paediatr* 98(8):1254–1259. doi:10.1111/j.1651-2227.2009.01315.x
18. Ramos FG, Rosenfeld CR, Roy L, Koch J, Ramaciotti C (2010) Echocardiographic predictors of symptomatic patent ductus arteriosus in extremely-low-birth-weight preterm neonates. *J Perinatol: official J Calif Perinatal Association* 30(8):535–539. doi:10.1038/jp.2010.14
19. Sanjeev S, Pettersen M, Lua J, Thomas R, Shankaran S, L'Ecuyer T (2005) Role of plasma B-type natriuretic peptide in screening for hemodynamically significant patent ductus arteriosus in preterm neonates. *J Perinatol: official J Calif Perinatal Association* 25(11):709–713. doi:10.1038/sj.jp.7211383
20. Silverman NH, Lewis AB, Heymann MA, Rudolph AM (1974) Echocardiographic assessment of ductus arteriosus shunt in premature infants. *Circulation* 50(4):821–825
21. Skinner J (2000) Ductal shunting. In: Alverson D, Hunter S (eds) *Skinner J. Echocardiography for the Neonatologist*, Churchill Livingstone, pp 151–167
22. Van Overmeire B, Follens I, Hartmann S, Creten WL, Van Acker KJ (1997) Treatment of patent ductus arteriosus with ibuprofen. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 76(3):F179–F184
23. Vanhaesebrouck S, Zonnenberg I, Vandervoort P, Bruneel E, Van Hoestenbergh MR, Theyskens C (2007) Conservative treatment for patent ductus arteriosus in the preterm. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 92(4):F244–F247. doi:10.1136/adc.2006.104596
24. Witthaut R (2004) Science review: natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care* 8(5):342–349. doi:10.1186/cc2890
25. Zonnenberg I, de Waal K (2012) The definition of a haemodynamic significant duct in randomized controlled trials: a systematic literature review. *Acta Paediatr* 101(3):247–251. doi:10.1111/j.1651-2227.2011.02468.x

5.4. Současné možnosti biochemické analýzy myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců

V diagnostice myokardiální dysfunkce novorozenců jsou biochemické markery spíše doplňujícím vyšetřením. U dospělých pacientů se již běžně používají v diagnostice akutního i chronického selhání srdce (15,16). Cílem tohoto souborného referátu je poskytnout přehled o současných možnostech biochemické diagnostiky myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců. Informace jsou zaměřeny na funkční změny, použití v dětské kardiologii a u dětí s vrozenými vadami není cílem této publikace.

Současné možnosti biochemické analýzy myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců.

Širc J.^{1,2}, Straňák Z.^{1,2}

¹ Ústav pro péči o matku a dítě, ředitel Doc. MUDr. Jaroslav Feyereisl, CSc.

² Katedra gynekologie a porodnictví 3. LF UK, přednosta Doc. MUDr. Bohuslav Svoboda, CSc.

ÚVOD

Myokardiální dysfunkce z různých příčin (nedonošenost, asfyxie, sepse) je závažná komplikace s vysokou morbiditou a mortalitou. Diagnostické možnosti myokardiální dysfunkce (myocardial dysfunction, MD) jsou velmi omezené. Klinický stav pacienta a fyzikální vyšetření jsou velice nespecifické a subjektivní. V diagnostice MD získává stále větší význam funkční echokardiografie, která však vyžaduje adekvátní technické a personální vybavení. Ostatní zobrazovací metody se téměř nepoužívají. Invasivní metody jsou limitované velikostí pacientů a jejich místo je spíše na úrovni experimentální medicíny. Hodnocení závažnosti MD je komplikováno variabilními klinickými parametry novorozenců: nízká porodní hmotnost, vysoká vulnerabilita, častá polymorbidita (syndrom dechové tísně – RDS, přetrvávající otevřená tepenná dučej – PDA, oběhová nestabilita, infekce, vrozené vady apod.). Biochemické markery mají hlavní místo v diagnostice ischemického poškození myokardu u dospělých pacientů. V neonatologii bylo jejich použití doposud omezené a méně rozšířené.

Cílem souborného referátu je poskytnout přehled o současných možnostech biochemické diagnostiky myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců.

BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (BNP), N-TERMINAL BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (NTproBNP)

Brain natriuretic peptide (BNP) byl poprvé popsán v extraktu z prasečího mozku, ale vyskytuje se také v lidském mozku. BNP je vylučován především při tlakovém a objemovém přetížení myocytů srdečních komor a síní. BNP působí jako antagonist renin-angiotensin-aldosteronového systému a má diuretické, natriuretické a vasodilatační účinky. Výsledkem působení BNP je snížení intravaskulárního objemu, snížení preloadu a afterloadu.

BNP je syntetizován jako pre-prohormon, složený ze 134 aminokyselin, a metabolizován na proBNP (108 aminokyselin), který je následně metabolizován na biologicky aktivní BNP (32 aminokyselin, poločas 20 min) a inaktivní fragment N-terminal proBNP s poločasem 60 min (1).

BNP a NTproBNP jsou u dospělých pacientů používány v biochemické diagnostice chronické ventrikulární dysfunkce. Specifita vyšetření je vyšší ve srovnání s klinickými a radiologickými metodami (2). Rekombinantní forma BNP (nesiritide) se používá k léčbě akutního a dekompenzovaného srdečního selhání u dospělých pacientů (13).

Plasmatické hladiny BNP korelují u novorozenců s velikostí levo-právěho zkratu a systolického tlaku pravé komory, negativně korelují s ejekční frakcí levé komory (3). Po narození BNP a NTproBNP stoupají, dosahují maxima 3.–4. den a poté postupně klesají (4). Pravděpodobně je to reakce na objemové a tlakové zatížení při iniciálním vysokém plicním tlaku a ukončení metabolismu těchto peptidů placentou – snížení clearance (5).

Problematika měření Brain natriuretic peptide (BNP) a N-terminal brain natriuretic peptide (NTproBNP) u pacientů s otevřenou tepennou dučejí (patent ductus arteriosus, PDA):

Nejčastěji jsou BNP a NTproBNP citovány v souvislosti s hemodynamickou problematikou persistující otevřené tepenné dučeje (patent ductus arteriosus, PDA). Na zvířecích modelech byl popsán vliv uvedených peptidů na PDA. U plodů myši je vyšší poměr NPR-A/B receptorů (atrial natriuretic factor receptor A/B), jejichž stimulace udržuje PDA otevřený oproti NPR-C receptoru (odpovědný za endocytózu a degradaci BNP). Po narození se poměr obrací, začne převažovat vliv NPR-C receptoru, což vede k většímu odbourávání BNP a menší stimulaci NPR-A/B receptoru. Výsledkem je uzavřít PDA. Přetrvávající vysoké hodnoty BNP tedy mohou vést k neuzavření tepenné dučeje (6). Hladina BNP koreluje s průměrem PDA, plicním průtokem a velikostí stealu v abdominální aortě a arteria mesenterica superior (7). Nízká korelace byla nalezena s LA/Ao poměrem (poměr průměru levé síně a aorty v podélné dvoudutinové projekci při echokardiografii, $r=0,33$). V další práci (8) však byla korelace vyšší ($r=0,73$).

Srovnatelně NTproBNP je při otevřené PDA a sepsi signifikantně vyšší (9, 10). El-Khuffash (11) sledoval hladiny NTproBNP a troponinu T u 80 nedonošených dětí pod 32. gestační týden, s průměrnou porodní hmotností 1006 gramů. Děti s PDA měly signifikantně vyšší hladiny NTproBNP i troponinu T oproti dětem bez PDA ($p < 0,001$) ve 48. hodině života. Dále děti s PDA a intrakraniálním krvácením III. a IV. st. (PIVH III. – IV. stupně podle Papila), nebo kteří zemřeli během hospitalizace, měly vyšší hladiny NTproBNP ($p < 0,001$) a troponinu T ($p < 0,001$) ve srovnání s dětmi bez PDA. Signifikantní rozdíl byl i mezi skupinou s PDA + PIVH III. – IV. stupně/zemřeli a děti s PDA bez komplikací. Hemodynamické parametry PDA (LA/Ao, steal v abdominální aortě, průměr PDA) se mezi skupinami nelišily.

Současná klasifikace PDA podle průměru je, s ohledem na uvedené skutečnosti, nedostatečná a nebere v úvahu velikost, stáří a klinický stav pacienta. Další stratifikace dětí a grading PDA je logickým a nutným krokem (12). NTproBNP a troponin T u hemodynamicky signifikantního PDA mohou společně s echokardiografickými a klinickými známkami pomoci diagnostikovat a včas léčit vysoce rizikové pacienty s PDA.

TROPONIN I, TROPONIN T A TROPONIN C

Troponinový komplex je spolu s kontraktilními proteiny součástí svalové sarkomery. Tento komplex je složen z 3 komponent – troponinu I (TnI), který inhibuje Mg-ATPasu a tím inhibuje tvorbu můstku mezi aktinem a myosinem, troponinu T (TnT), který se váže na tropomyosin a troponinu C (TnC), který vazbou Ca⁺⁺ mění svoji konformaci a tím působí proti inhibiční funkci TnI. Většina troponinu je vázaná v kontraktilním aparátu, 3–7 % je rozpuštěných v cytosolu (14).

Cardiac troponin I (cTnI)

Existují 3 isoformy Troponinu I: 2 isoformy se nachází v příčně pruhovaném svalstvu a 1 v srdeční svalovině (cardiac Troponin I, cTnI).

cTnI je uvolňován do cirkulace do 4 hodin po ischemickém i neischemickém poškození srdeční svaloviny. Sérová hladina je vysoce citlivým a specifickým parametrem srdečního poškození u dospělých pacientů. U novorozenců stoupá hladina cTnI především po asfyxii. Quivers (15) popisuje signifikantně vyšší hladiny u nedonošených dětí a dětí s nízkou porodní hmotností. Bader (16) uvádí trend k vyšším hladinám cTnI u těchto dětí a vyšší hodnoty u dětí porozených císařským řezem, oproti dětem po vaginálním porodu (může být způsobeno vyšším stresem u plodu před provedením císařského řezu). Obě studie jsou ovšem limitované malým množstvím sledovaných dětí.

Referenční hodnoty pro cTnI neexistují, ale hodnoty u zdravých novorozenců narozených v termínu se ve studiích pohybují do 1,8 ng/ml, medián 0,2-0,7 ng/ml. 95. percentil se pohybuje kolem 1,8-2,0 ng/ml, hodnoty nad touto hranicí jsou popisovány především u asfyktických dětí a svědčí pro myokardiální dysfunkci. Při cTnI nad 4,5-5 ng/ml je vysoké riziko úmrtí (15,16,17,18,19). Hodnoty mohou být samozřejmě výrazně ovlivněné počtem dětí ve studiích, metodologií vyšetření a citlivostí testu (komerčních testů existuje minimálně 9, rozeznávají různé epitopy – vazebná místa, a také troponinové komplexy nebo degradační produkty). Například McAuliffe (20) a Trevisanuto (21) udávají nižší hodnoty na hranici citlivosti testu u většiny donošených dětí (0,03-0,04 ng/ml). U stabilních nedonošených dětí je medián kolem 1,5 ng/ml (15,16).

Cardiac troponin T (cTnT)

Cardiac Troponin T (cTnT) je vysoce citlivý a specifický marker myokardiálního poškození. Jeho koncentrace stoupá již 2 hod po inzultu. Maxima dosahuje ve 12. hod a vysoké hodnoty jsou měřitelné ještě 2 týdny (22). U zdravých donošených dětí jsou jeho hladiny nízké a mírně stoupají do 3.-4. dne, poté klesají. Ve většině prací se střední hodnoty pohybují do 0,05 ug/l. Hodnoty jsou signifikantně vyšší u nedonošených dětí s RDS a s RDS + inotropní podporou (střední hodnoty do 0,15 resp. 0,3 ug/l) (24,25,26,27). Ve studii Cruze (27) mělo dokonce 89% novorozenců hodnoty odpovídající srdečnímu infarktu u dospělých pacientů. Jedná se o výsledky testů 3. generace, které nejsou ovlivněné hladinou bilirubinu, hemolýzou, renálním poškozením a minimálně reagují s cTnI a kosterním troponinem T (23). Jsou tedy vysoce citlivé pro poškození buněk myokardu.

Vyšší hladina cTnT je pravděpodobně způsobena ischemií, apoptózou, nebo obojí. Apoptóza je velice častá především v prvním trimestru, ale Fisher (29) popsal na myších modelech vysoké množství apoptóz i dva týdny po porodu. Je tedy možné, že u předčasně narozených dětí je frekvence apoptózy vyšší, než u donošených dětí. Hypotézy o toxickém působení catecholaminů na myokard, mateřském původu cTnT a sníženém renálním clearance, jako příčin vyšších hladin cTnT, se nepotvrdily. Nebyla nalezena korelace mezi gestačním stářím a cTnT (28, 25) a/nebo korelace hladin cTnT s echokardiografickým měřením myokardiální dysfunkce – frakčním zkrácením (SF), wall strem testem (WS) a střední rychlostí obvodového zkrácení (VcFs) (27).

Výsledky studie El-Khuffashe (11) byly popsány v odstavci o NTproBNP a popsaly cTnT jako možný marker hemodynamicky signifikantního PDA se špatným outcome. Příčinou může být velký levoprávní zkrat, který vede ke snížení koronárního průtoku, zvýšení svalové práce a následné hypoperfúzi myokardu. Trevisanuto (30) porovnával hladiny cTnT u 11 nedonošených dětí s PDA a 12 dětí bez PDA (stejný gestační týden a hmotnost) s rozdílnými výsledky (nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi skupinami). Výsledky jsou však limitovány malým počtem pacientů.

Poškození buněk myokardu je pravděpodobně u nedonošených dětí velice časté a je jednou z hlavních příčin systémové hypoperfúze krátce po porodu. cTnT by mohl být prediktor špatného outcome u nedonošených dětí s hemodynamicky signifikantním PDA, ale jsou nutné další studie k ověření této teorie.

KREATINKINASA (CK)

Enzym kreatinkinasa katalyzuje reverzibilní fosforylaci kreatinu. Je přítomný především v mitochondriích a cytosolu buněk kosterního svalstva, myokardu, CNS a v hladké svalovině. CK je dimer, složený z polypeptidových jednotek M (muscle) a B (brain), z kterých jsou tvořeny izoenzymy BB (přítomný v mozku, prostatě a hladkém svalu), MB (především kosterní sval, ale také myokard) a MM (kosterní sval a myokard). Dále se rozlišují izoformy těchto izoenzymů. Z hlediska myokardiální dysfunkce je důležitá CK-MB. V krvi stanovujeme buď enzymatickou aktivitu CK-MB, nebo hmotnostní koncentraci (CK-MB mass), která má vyšší senzitivitu a specifitu (31). Celková CK se tedy zvyšuje u onemocnění a poškození kosterních svalů a myokardu. CK-MB se zvyšuje jak u poškození buněk kosterního svalstva, tak buněk myokardu, pokud je ale její poměr k celkové CK > 0,1 a/nebo CK-MB mass nad 5 ug/l, je nálež specifický pro poškození myokardu. Problémem CK-MB jako markeru myokardiálního poškození je jeho nízká specifita u dětí do 4 let. Nem-Yun Boo (32) měřil CK-MB mass u donošených asfyktických dětí. Hladina po porodu byla u asfyktických dětí signifikantně vyšší, než u zdravých donošených (30,0 ug/l vs 6,4 ug/l). Koncentrace dosáhla maxima za 12 hod po inzultu (medián u asfyktických novorozenců: 51,8 ug/l), poté klesala a téměř původní hodnoty dosáhla za 48 hod. Hodnoty CK-MB byly signifikantně vyšší oproti kontrolní skupině (p < 0,001). Nebyly ovšem signifikantní rozdíly mezi skupinou se srdečním selháním a bez srdečního selhání (stanoveno echokardiograficky pomocí ejekční frakce), ani mezi asfyktickými zemřelými dětmi a těmi, kteří přežili. Nebyl hodnocen poměr CK-MB a celkové CK. Výsledky tedy potvrzují nízkou kardiospecifitu CK-MB u asfyktických dětí. Trevisanuto (21) měřil CK-MB u zdravých donošených dětí z pupečnickové krve. Medián byl 4,9 ug/l, 45 % dětí mělo hodnotu nad 5 ug/l (odpovídá cut-off hodnotě pro myokardiální poškození u dospělých pacientů).

CK ani CK-MB tedy není u novorozenců vhodný biochemický marker myokardiálního poškození pro svoji nízkou specifitu.

HEART-TYPE FATTY ACID-BINDING PROTEIN (H-FABP)

Fatty acid-binding proteins jsou přítomné především v buněčných membránách a v cytosolu. Zajišťují rozpustnost a transport mastných kyselin přes membránu a uvnitř buněk. Je popsáno celkem 8 typů. V myokardu jsou 2 – epidermal fatty acid-binding protein (E-FABP) a kardio-specifický (H-FABP). Ten je vyplavován do cirkulace při poškození myokardu (35). Jeho hladina je zvýšená především v prvních 6 hodinách u dospělých pacientů s akutním koronárním syndromem. Při srovnání s ostatními, běžně užívanými markery (cTnI, CK-MB, myoglobin) má nejvyšší senzitivitu pro detekci nekrózy myokardu (33). Zkušenosti s FABP u novorozenců jsou však minimální, publikované jsou studie s intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP), který je slibným markerem v diagnostice nekrotizující enterokolitidy, resp. poškození enterocytů (34).

OSTATNÍ BIOCHEMICKÉ MARKERY MYOKARDIÁLNÍHO POŠKOZENÍ

Ischémií modifikovaný albumin (IMA). Při tkáňové hypoxii a následné reperfúzi vznikají volné kyslíkové radikály, které mění N-terminální konec albuminu a tím jeho vazebnou schopnost pro kationty (proto někdy název „albumin cobalt binding“ – test s kobaltovým kationtem). IMA je nepřímo úměrná hladině albuminu. U akutního infarktu myokardu (AIM) stoupá již po několika minutách a maxima dosahuje za 1 a více hodin. Není ovšem specifický pro hypoxii myokardu a důležitá je spíše jeho negativní výpovědní hodnota (36). Je zatím

publikováno málo studií na novorozencích. Gugliucci (37) měřil hladiny IMA u dětí po komplikovaných porodech (nedonošenost, distrese plodu, předčasný odtok plodové vody, růstová retardace plodu a pre-eclampsie), nekomplikovaných porodech a u zdravých dospělých dobrovolníků. Hodnoty po nekomplikovaných porodech byly signifikantně vyšší (o 45%) než u dospělých a po komplikovaných porodech signifikantně vyšší (o 50%) než po porodech nekomplikovaných. U novorozenců byla významně nižší hladina albuminu, ale vysoký rozdíl nelze vysvětlit pouze tímto mechanismem. Zdá se, že IMA může sloužit spíše jako marker asfyxie a jeho použití v diagnostice myokardiální ischemie novorozenců je omezené.

Myoglobin. Myoglobin se uvolňuje při poškození kosterního, srdečního i hladkého svalstva. Má vysokou citlivost, negativní predikční hodnotu a nízkou specifitu pro AIM u dospělých. Jeho hladina stoupá již za 1 hod po inzultu, maxima dosahuje za 6–7 hod a normalizuje se za 24 hod (36). Rozmezí hladin u dospělých mužů je 17–106 ng/ml, žen 14–66 ng/ml, u novorozenců nejsou referenční hodnoty. Lipshultz (38) popisuje medián v pupečnickové krvi 30,15 resp. 43,97 ng/ml u novorozenců do 48 hodin po porodu. U novorozenců po porodu nelze nikdy vyloučit jako zdroj myoglobinu poškození kosterního svalstva (ischemické nebo traumatické příčiny), eventuelně sníženou clearance ledvinami. Hladina myoglobinu má tedy především v prvních 24 hodinách po porodu spíše negativní prediktivní hodnotu. Dále je zdroj v kosterním a hladkém svalstvu méně pravděpodobný. Jeho použití v neonatologii je tedy diskutabilní.

Glykogenfosforyláza (izoenzym BB), cholin. Vyšetření těchto enzymů se v praxi u dospělých pacientů nepoužívá a není známo jejich použití u novorozenců.

Jaterní testy. K poškození jater charakterizované elevací aminotransferáz (ALT, AST) dochází až u 80 % asfyktických dětí (39). V prvních 72 hodinách korelují hladiny ALT a AST se střední až těžkou hypoxicko-ischemickou encefalopatií (HIE). Stoupá také hladina laktát-dehydrogenázy (LDH), stoupá INR (Quickův test) a klesá albumin (40). Patologické výsledky jaterních testů vypovídají o hypoxickém poškození jaterních buněk při hypoperfuzi periferních orgánů, ale neříkají nic konkrétního o poškození myokardu.

ZÁVĚR

Při poškození myokardu se vyplavuje celá řada látek, které jsou více či méně specifické pro srdeční svalovinu. V kardiologii se jejich sérová hladina používá k diagnostice ischemického poškození myokardu a mají vyšší specifitu i sensitivitu než ostatní vyšetřovací metody. V neonatologii je jejich význam limitovaný, ale s narůstajícím počtem studií kontinuálně roste. Myokardiální dysfunkce je častější, než se původně myslelo, především u dětí velmi nízké porodní hmotnosti. U novorozenců jsou určitá specifika, která použití těchto markerů limitují – nižší specifita pro ischemii myokardu, menší zkušenosti, absence referenčních hodnot, omezené terapeutické možnosti apod.

Nejvíce zkušeností je s měřením cTnT a cTnI. Hodnoty cTnT a cTnI stoupají krátce po inzultu, jsou specifické pro myokard a existuje mnoho komerčních testů pro jejich stanovení. Vysoké hladiny BNP, NT-proBNP a také cTnT jsou charakteristické při otevřené tepenné dučejí. K použití dalších biochemických markerů je zatím málo důkazů a publikovaných studií.

Biochemická analýza nám může pomoci v diagnostice a časné terapii novorozenců s myokardiální dysfunkcí a s hemodynamicky signifikantním PDA se špatnou prognózou.

LITERATURA:

1. Withaut R. Science review: Natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care* 2004,8:342–9
2. Abassi Z, Karram T, Ellaham S, et al. Implications of the natriuretic peptide system in the pathogenesis of heart failure: diagnostic and therapeutic importance. *Pharmacol Ther* 2004,102:223–41.
3. Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J* 2006,27:861–6
4. Mir TS, Marohn S, Laer S, et al. Plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatrics* 2002,110:e76
5. Mir TS, Laux R, Hellwege HH, et al. Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics* 2003,112:896–9
6. Reynolds EW, Ellington JG, Vranicar. et al. Brain-type natriuretic peptide in the diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 2004,114:1297–304
7. Flynn PA, da Graca RL, Auld PA, et al. The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J. Pediatr* 2005, 147:38–42
8. Choi BM, Lee KH, Eun BL, et al. Utility of rapid B-type natriuretic peptide assay for diagnosis of symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Pediatrics* 2005,115:255–61
9. Andersson S, Tikkanen L, Personer E, et al. Atrial natriuretic peptide in patent ductus arteriosus. *Pediatr Res* 1987, 21:396–9
10. Farombi-Oghuvbu I, Matthews T, et al. N-Terminal Pro-B-type natriuretic peptide: a measure of significant patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Neonatal Ed* 2008,93: 257–260
11. El-Khuffash A, D Barry, K Walsh, P G Davis, E J Molloy. Biochemical markers may identify preterm infants with a patent ductus arteriosus at high risk of death or severe intraventricular haemorrhage. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008,93:407–412
12. McNamara PJ, A Sehgal, Towards rational management of patent ductus arteriosus: need for disease staging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2007,92:424–427
13. Hillock RJ, C M Frampton, T G Yandle, R W Troughton, J G Lainchbury, and A M Richards. B-type natriuretic peptide infusions in acute myocardial infarction. *Heart* 2008; 94: 617–622
14. Wu AH, Feng YJ. Biochemical differences between cTnT and cTnI and their significance for diagnosis of acute coronary syndromes. *Eur Heart J* 1998,19 (Suppl N):25–29
15. Quivers ES, Murthy JN, Soldin SJ. The effect of gestational age, birth weight, and disease on troponin I and creatine kinase MB in the first year of life. *Clin Biochem* 1999,32(6):419–21
16. Bader D et al. Cardiac troponin I serum concentration in newborns: A study and review of the literature. *Clinica Chimica Acta* 2006,371: 61–65
17. Hirsch R, Landt Y, Porter S, Canter CE, Jaffe AS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I in pediatrics: normal values and potential use in the assessment of cardiac injury. *J Pediatr* 1997,130(6):872–7
18. Turker G, Babaoglu K, Gokalp AS, Sarper N, Zengin E, Arisoy AE. Cord blood cardiac troponin I as an early predictor of short-term outcome in perinatal hypoxia. *Biol Neonate* 2004,86(2):131–7
19. Araujo K, da SJ, Sanudo A, Kopelman B. Plasma concentration of cardiac troponin I in newborn infants. *Clin Chem* 2004,50(9):1717–8
20. McAuliffe F, Mears K, Fleming S, Grimes H, Morrison JJ. Fetal cardiac troponin I in relation to intrapartum events and umbilical artery pH. *Am J perinatol* 2004,21(3):147–52

6. Souhrnná diskuze k publikacím

Novorozenci velmi nízké porodní hmotnosti jsou vysoce vulnerabilní skupinou pacientů. Kritickým a nejrizikovějším obdobím je prvních 48-72 hodin po narození. S klesajícím gestačním stářím a porodní hmotností stoupá riziko oběhového selhání s následnou morbiditou a mortalitou (1). Diagnostické i terapeutické možnosti jsou vzhledem ke specifickým těchto pacientů omezené. Všeobecně uznávaný princip minimální manipulace komplikuje i výzkumné možnosti u těchto pacientů. Prezentované studie proto byly odsouhlaseny etickou komisí pracoviště (Coombe Women and Infants University Hospital, Dublin, Irsko) a rodiče podepsaly informovaný souhlas s přítomností novorozence ve studii. První dvě studie čerpají z dat na jednom souboru novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů. V prvních 48 hodinách jsme v pravidelných intervalech měřili oxygenaci mozku pomocí near infrared spektroskopie následovanou echokardiografickým vyšetřením srdce a ultrazvukem mozku. Zároveň byly zaznamenány klinické údaje o pacientech.

Součástí echokardiografie bylo měření diastolických parametrů levé i pravé komory pomocí Dopplerovského mapování. Námi prezentované hodnoty, v porovnání s publikovanými daty u plodů, donošených a nedonošených novorozenců později po porodu, odpovídají diastolické dysfunkci, poruše relaxace a plnění komor. Předpokládáme, že změny během vyšetřovaného období, tedy od 6. do 48. hodiny, reflektují zlepšení diastolické funkce myokardu. Námi publikované výsledky jsou, pokud je nám známo, první prezentací diastolické funkce myokardu u novorozenců pod 1250 gramů v prvních 48 hodinách věku měřených pomocí vtokových parametrů.

Další součástí funkční echokardiografie bylo měření srdečního výdeje levé (LVO) a pravé (RVO) komory a návratu honí dutou žílou (SVC flow). Je mnoho studií popisující tyto parametry u nedonošených dětí (3,17,18). Naším 1. důvodem k tomuto měření bylo lepší porozumění postnatálních hemodynamických změn a interpretace diastolických parametrů, protože informace o jejich závislosti na preloadu a afterloadu nejsou konzistentní (21-24,26). Dalším důvodem a tématem druhé prezentované publikace bylo popsat vztah mezi oxygenací mozku a srdečním výdejem u těchto novorozenců.

Srdeční výdej levé komory po celé sledované období stoupal, výdej pravé komory stoupal jen do 24. hod. Návrat horní dutou žílou, parametr průtoku horní částí těla a především mozku, také stoupal, změny však nebyly signifikantní. Výsledky jsou v souladu s již publikovanými (3,17,18). Důvodem vzestupu LVO a RVO je přítomnost PDA, foramen ovale (FOA) a pravděpodobně lepší systolická i diastolická funkce komor. Levo-pravý zkrat přes PDA zvyšuje LVO a zkrat přes FOA zvyšuje RVO. Větší zkrat otevřenou tepennou dučejí oproti síňovým zkratům vysvětluje vyšší hodnoty LVO než RVO. Srdce je tedy po porodu výrazně objemově zatížené. Navíc stoupá systémová vaskulární rezistence a krevní tlak, který jsme popsali i my. Nezralé srdce má však menší kontraktilní schopnost při vzestupu

afterloadu (71). Důvodem je menší množství kontraktilních elementů, vyšší obsah vody, větší poměr povrchu k objemu a nezralé sarkoplazmatické retikulum (72,73). Relativně větší zastoupení endomysialního kolagenu I.typu navíc snižuje compliance srdce (74). Výsledkem může být nižší systémový průtok a tedy nízký návrat horní dutou žílou. V námi sledované kohortě mělo dokonce 41% novorozenců alespoň v jednom měření nízký SVC flow, nejčastěji v 6., respektive 12. hodině. SVC flow proti našemu očekávání nekorelovalo pozitivně s oxygenací mozku, tedy cTOI. Naopak, v 6. hodině byla korelace negativní a ve 12. hodině cTOI dále kleslo. Zároveň extrakce kyslíku z krve, cFTOE, stoupla ve 12. hodině s následným poklesem. Mozek byl tedy nucen ve 12. hodině extrahovat více kyslíku. Vysvětlením nulové nebo dokonce negativní korelace mezi cTOI a SVC flow mohou být nepřesnosti v echokardiografickém měření SVC flow, jak ukázal Broadhouse v porovnání s funkční magnetickou rezonancí (11). Druhým vysvětlením může být fakt, že SVC flow není přesným ukazatelem průtoku krve mozkiem, ale reprezentuje spíše prokrvení horní části těla. Referenční cTOI data změřená přístrojem NIRO-300 u velmi nezralých novorozenců v postnatálním období již byla publikována (36), naše výsledky však mohou sloužit jako referenční data pro NIRO-200.

V třetí studii jsme zjišťovali vztah krevních hodnot NT-proBNP a velikostí otevřené tepenné dučeje u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti po prvním týdnu po narození. Dosud publikované studie popisují tento vztah v prvním týdnu (13,54,55). Důvodem je snaha většiny pracovišť uzavřít (farmakologicky nebo chirurgicky) PDA a předejít případným komplikacím souvisejících s hemodynamicky významným PDA. Kauzální vztah mezi PDA a komplikacemi ani pozitivní vliv uzavěru dučeje na psychomotorický vývoj však nebyl prokázán. Stále častěji akceptovaný konzervativní a observační přístup vede k většímu množství pacientů s PDA po prvním týdnu. V naší kohortě pacientů NT-proBNP koreluje s průměrem PDA první 3 týdny, dále rozdíly nebyly signifikantní pravděpodobně díky malému množství pacientů. V klinické praxi se při posuzování významnosti PDA ultrazvukem hodnotí kromě průměru celá řada parametrů – charakter toku v PDA, poměr velikosti levé síně k aortě, průměr PDA k průměru levé větve plicnice, retrográdní toky ve velkých arteriích atd. Žádný z námi sledovaných parametrů nekoreloval s NT-proBNP. Vysvětlením je pravděpodobně vliv jiných faktorů – velikost foramen ovale, schopnost srdce zvýšit srdeční výdej, rozdíly v systémové a plicní vaskulární rezistenci u pacientů, umělá plicní ventilace a mnoho dalších faktorů.

Čtvrtá publikace je souborným referátem popisující dnešní znalosti a možnosti biochemických markerů v diagnostice myokardiálního selhání. Použití většiny z nich limituje malá specificita a nedostatek informací z dobře provedených studií u novorozenců. Nejvíce zkušeností je se skupinou troponinu, cTnT a cTnI a dále NT-proBNP nebo BNP u diagnostiky otevřené tepenné dučeje a její hemodynamické významnosti.

7. Závěry

7.1. Parametry diastolické funkce komor se u novorozenců s porodní hmotností pod 1250 gramů během 48 hodin po narození signifikantně mění a tyto změny mohou reprezentovat diastolickou myokardiální dysfunkci.

7.2. Návrat horní dutou žílou, levostranný a pravostranný srdeční výdej stoupají v prvních 48 hodinách. Oxygenace mozku reprezentovaná cTOI ve 12. hodině klesla se současným vzestupem extrakce kyslíku z krve. cTOI negativně korelovalo s průtokem horní dutou žílou v 6. hodině.

7.3. Koncentrace NT-proBNP je signifikantně zvýšena u nedonošených novorozenců s otevřenou tepennou dučejí a koreluje s průměrem dučeje v prvních 3 týdnech po narození.

7.4. V biochemické diagnostice myokardiální dysfunkce je nejvíce zkušeností s cTnI, cTnT a NT-proBNP. Zůstávají ale komplementárním vyšetřením k ostatním metodám vyšetření myokardiální dysfunkce.

8. Conclusions

8.1. Parameters of diastolic ventricular function change significantly over the first 48 hours of life in neonates with birth weight less than 1250 grams. These changes may represent early diastolic dysfunction.

8.2. Superior vena cava flow, left and right ventricular output increased during the first 48 hours of life. Cerebral oxygenation represented by cTOI decreased at 12 hours of life with concomitant increased blood oxygen extraction. There was a negative correlation between cTOI and SVC flow at 6 hours of life.

8.3. Concentration of NT-proBNP is significantly increased in preterm newborns with a patent ductus arteriosus and correlates with diameter in the first three weeks of life.

8.4. There are most experiences with cTnI, cTnI and NT-proBNP in biochemical diagnosis of myocardial dysfunction. Their useability remains as complementary tests to other methods of myocardial dysfunction assessment.

9. Použitá literatura

1. Kluckow M., Evans N. Low superior vena cava flow and intraventricular haemorrhage in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2000 May;82:188-94
2. Drayton MR, Skidmore R. Vasoactivity of the major intracranial arteries in newborn infants. *Arch Dis Child.* 1987 Mar;62:236-40
3. Miletin J, Dempsey EM. Low superior vena cava flow on day 1 and adverse outcome in the very low birth weight infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008 Sep;93(5):369-71
4. Mertens L, Seri I, Marek J, Arlettaz R, Barker P, McNamara P, Moon-Grady AJ, Coon PD, Noori S, Simpson J, Lai WW; Writing Group of the American Society of Echocardiography;European Association of Echocardiography;Association for European Pediatric Cardiologists. Targeted Neonatal Echocardiography in the Neonatal Intensive Care Unit: practice guidelines and recommendations for training. Writing Group of the American Society of Echocardiography (ASE) in collaboration with the European Association of Echocardiography (EAE) and the Association for European Pediatric Cardiologists (AEPC). *J Am Soc Echocardiogr.* 2011 Oct;24(10):1057-78
5. Takahashi Y, Harada K, Kishkumo S, et al. Postnatal left ventricular contractility in very low birth weight infant. *Pediatr Cardiol.* 1997 Mar-Apr;18(2):112-7
6. Riggs TW, Rodriguez R, Snider AR, Batton D. Doppler echocardiographic evaluation of right and left ventricular diastolic function in normal neonates. *J Am Coll Cardiol* 1989 Mar;13(3):700-5
7. Schmitz L, Koch H, Bein G, Brockmeier K. Left ventricular diastolic function in infants, children, and adolescents. Reference values and analysis of morphologic and physiologic determinants of echocardiographic Doppler flow signals during growth and maturation. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Nov;32(5):1441-8
8. Schmitz L, Stiller B, Pees C, Koch H, Xanthopoulos A, Lange P. Doppler derived parameters of diastolic left ventricular function in preterm infants with a birth weight <1500 g: reference values and differences to term infants. *Early Hum Dev.* 2004 Feb;76(2):101-14
9. Harada K, Rice MJ, Shiota T, Ishii MM, McDonald RW, Reller MD, et al. Gestation age- and growth-related alterations in fetal right and left ventricular diastolic filling patterns. *Am J Cardiol.* 1997 Jan 15;79(2):173-7
10. Naulaers G, Morren G, Van Huffel S, Casaer P, Devlieger H. Measurements of tissue oxygenation index during the first three days in premature born infants. *Adv Exp Med Biol.* 2003;510:379-83
11. Broadhouse KM, Price AN, Durighel G, Cox DJ, Finnemore AE, Edwards AD, Hajnal JV, Groves AM. Assessment of PDA shunt and systemic blood flow in newborns using cardiac MRI. *NMR Biomed.* 2013 Sep;26(9):1135-41
12. Clyman RI, Chorne N. Patent ductus arteriosus: evidence for and against treatment. *J Pediatr.* 2007 Mar;150(3):216-9

13. Ramakrishnan S, Heung YM, Round J, Morris TP, Collinson P, Williams AF. Early N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurements predict clinically significant ductus arteriosus in preterm infants. *Acta Paediatr.* 2009 Aug;98(8):1254-9
14. Benitz WE. Treatment of persistent patent ductus arteriosus in preterm infants: time to accept the null hypothesis? *J Perinatol.* 2010 Apr;30(4):241-52
15. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet.* 2008 Aug 16;372(9638):570-84
16. Kociol RD, Pang PS, Gheoghiade M, Fonarow GC, O'Connor CM, Felker GM. Troponin elevation in heart failure prevalence, mechanism, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Sep 28;56(14):1071-8
17. Evans N, Kluckow M. Early determinant of right and left ventricular output in ventilated preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1996 Mar;74(2):88-94
18. Kluckow M, Evans N. Superior vena cava flow. A novel marker of systemic blood flow. *Arch Dis Child.* 2000 May;82(3):182-7
19. Osborn DA, Evans N, Kluckow M. Hemodynamic and antecedent risk factors of early and late periventricular/intraventricular hemorrhage in premature infants. *Pediatrics.* 2003 Jul;112(1 Pt 1):33-9
20. Mielke G, Benda N. Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus. *Circulation.* 2001 Mar 27;103(12):1662-8
21. Triulzi MO, Castini D, Ornaghi M, Vitolo E. Effects of preload reduction on mitral flow velocity pattern in normal subjects. *Am J Cardiol.* 1990 Oct 15;66(12):995-1001
22. Choong CY, Herrmann HC, Weyman AE, Fifer MA. Preload dependence of Doppler-derived indexes of left ventricular diastolic function in humans. *J Am Coll Cardiol.* 1987 Oct;10(4):800-8.
23. Vandenberg BF, Rumberger JA, Kerber RE. Influence of sublingual nitroglycerin on diastolic transmitral flow velocities in normal subjects. *Am J Cardiol.* 1988 Feb;61(6):481-2
24. Schmitz L, Stiller B, Koch H, Koehne P, Lange P. Diastolic left ventricular function in preterm infants with a patent ductus arteriosus: a serial Doppler echocardiography study. *Early Hum Dev.* 2004 Feb;76(2):91-100
25. Gianuzzi P, Imparato A, Temporelli P.L., et al. Doppler-derived mitral deceleration time of early filing as a strong predictor of pulmonary capillary wedge pressure in postinfarction patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 1994;23:1630-7
26. Shimizu Y, Uematsu M, Shimizu H, Nakamura K, Yamagishi M, Miytake K. Peak negative myocardial velocity gradient in early diastole as a noninvasive indicator of left ventricular diastolic function: comparison with transmitral flow velocity indices. *J Am Coll Cardiol.* 1998 Nov;32(5):1418-25
27. Mauritz GJ, Marcus JT, Westerhof N, Postmus PE, Vonk-Noordegraaf A. Prolonged right ventricular post-systolic isovolumic period in pulmonary arterial hypertension is not a reflection of diastolic dysfunction. *Heart.* 2011 Mar;97(6):473-8

28. Sehgal A. Haemodynamically unstable preterm infant: an unresolved management conundrum. *Eur J Pediatr*. 2011 Oct;170(10):1237-45
29. Stranak Z, Semberova J, Barrington K, O'Donnell C, Marlow N, Naulaers G, Dempsey E;HIP consortium. International survey on diagnosis and management of hypotension in extremely preterm babies. *Eur J Pediatr*. 2014 Jun;173(6):793-8
30. Papile LA, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: a study of infants with birth weight less than 1,500 gm. *J Pediatr* 1978 Apr;92(4):529-34
31. de Vries LS, Eken P, Dubowitz LMS. The spectrum of leucomalacia using cranial ultrasound. *Behav Brain Res*. 1992 Jul;49(1):1-6
32. Meek JH, Tyszczuk I, Elwell CE, Wyatt JS. Cerebral blood flow increases over the first three days of life in extremely preterm neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1998 Jan;78(1):33-7
33. Naulaers G, Morren G, Van Huffel S, Casaer P, Devlieger H. Measurements of tissue oxygenation index during the first three days in premature born infants. *Adv Exp Med Biol*. 2003;510:379-83
34. Takami T, Sunohara D, Kondo A, Mizukaki N, Suganami Y, Takei Y, et al. Changes in cerebral perfusion in extremely LBW infants during the first 72 h after birth. *Pediatr Res Nov*. 2010;68(5):435-9
35. Takashima S, Itoh M, Oka A. A history of our understanding of cerebral vascular development and pathogenesis of perinatal brain damage over the past 30 years. *Semin Pediatr Neurol*. 2009 Dec;16(4):226-36
36. Sorensen LC, Leung TS, Greisen G. Comparison of cerebral oxygen saturation in premature infants by near-infrared spatially resolved spectroscopy: observations on probe-dependent bias. *J Biomed Opt*. 2008 Nov-Dec;13(6):064013
37. Groves AM, Kuschel CA, Knight DB, Skinner JR. Echocardiographic assessment of blood flow in the superior vena cava and descending aorta in the newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008 Jan;93(1):24-8
38. Moran M, Miletin J, Pichova K, Dempsey EM. Cerebral tissue oxygenation index and superior vena cava flow in the very low birth weight infant. *Acta Paediatr*. 2009 Jan;98(1):43-6
39. Ficial B, Finnemore AE, Cox DJ, Broadhouse KM, Price AN, Durighel G, Ekitzidou G, Hajnal JV, Edwards AD, Groves AM. Validation study of the accuracy of echocardiographic measurements of systemic blood flow volume in newborn infants. *J Am Soc Echocardiogr*. 2013 Dec;26(12):1365-71
40. Costello JM, Goodman DM, Green TP. A review of the natriuretic hormone system's diagnostic and therapeutic potential in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med*. 2006 Jul;7(4):308-18

41. Witthaut R. Science review: natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care*. 2004 Oct;8(5):342-9
42. Choi BM, Lee KH, Eun BL, Yoo KH, Hong YS, Son CS, Lee JW. Utility of rapid B-type natriuretic peptide assay for diagnosis of symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Pediatrics*. 2005 Mar;115(3):e255-61
43. Flynn PA, da Graca RL, Auld PA, Nesin M, Kleinman CS. The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J Pediatr*. 2005 Jul;147(1):38-42
44. Chen S, Tacy T, Clyman R. How useful are B-type natriuretic peptide measurements for monitoring changes in patent ductus arteriosus shunt magnitude? *J Perinatol*. 2010 Dec;30(12):780-5
45. McNamara PJ, Sehgal A. Towards rational management of the patent ductus arteriosus: the need for disease staging. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007 Nov;92(6):424-7
46. Ohlsson A, Walia R, Shah SS. Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 4, 2013, CD003481
47. Van Overmeire B, Follens I, Hartmann S, Creten WL, Van Acker KJ. Treatment of patent ductus arteriosus with ibuprofen. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1997 May;76(3):179-84
48. Benitz WE. Learning to live with patency of the ductus arteriosus in preterm infants. *J Perinatol*. 2011 Apr;31 Suppl 1:S42-8
49. Vanhaesebrouck S, Zonnenberg I, Vandervoort P, Brunnel E, Van Hoestenbergh MR, Theyskens C. Conservative treatment for patent ductus arteriosus in the preterm. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007 Jul;92(4):244-7
50. Silverman NH, Lewis AB, Heymann MA, Rudolph AM. Echocardiographic assessment of ductus arteriosus shunt in premature infants. *Circulation*. 1974 Oct;50(4):821-5
51. Ramos FG, Rosenfeld CR, Roy L, Koch J, Ramaciotti C. Echocardiographic predictors of symptomatic patent ductus arteriosus in extremely-low-birth-weight preterm neonates. *J Perinatol*. 2010 Aug;30(8):535-9
52. El-Khuffash A, Higgins M, Walsh K, Molloy EJ. Quantitative assessment of the degree of ductal steal using celiac artery blood flow to left ventricular output ratio in preterm infants. *Neonatology*. 2008;93(3):206-12. Epub 2007 Nov 9
53. Alverson D, Hunter S, Skinner J. Echocardiography for the Neonatologist, kapitola Ductal shunting, Skinner J. 2000, Churchill Livingstone, str. 151-167
54. El-Khuffash AF, Amoroso M, Culliton M, Molloy EJ. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a marker of ductal haemodynamic significance in preterm infants: a prospective observational study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2007 Sep;92(5):421-2
55. Nuntnarumit P, Khositseth A, Thanomsingh P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and patent ductus in preterm infants. *J Perinatol*. 2009 Feb;29(2):137-42

56. Horbar JD, Carpenter JH, Badger GJ, Kenny MJ, Soll RF, Morrow KA, Buzas JS. Mortality and neonatal morbidity among infants 501 to 1500 grams from 2000 to 2009. *Pediatrics*. 2012 Jun;129(6):1019-26
57. Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J*. 2006 Apr;27(7):861-6
58. Mir TS, Marohn S, Laer S, et al. Plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatrics*. 2002 Dec;110(6):e76
59. Mir TS, Laux R, Hellwege HH, et al. Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics*. 2003 Oct;112(4):896-9
60. El-Khuffash A, Barry D, Walsh K, Davis PG, Molloy EJ. Biochemical markers may identify preterm infants with a patent ductus arteriosus at high risk of death or severe intraventricular haemorrhage, *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2008 Nov;93(6):407-412
61. Quivers ES, Murthy JN, Soldin SJ. The effect of gestational age, birth weight, and disease on troponin I and creatine kinase MB in the first year of life. *Clin Biochem*. 1999 Aug;32(6):419-21
62. Bader D, Kugelman A, Lanir A, Tamir A, Mula E, Riskin A. Cardiac troponin I serum concentration in newborns: A study and review of the literature. *Clinica Chimica Acta*. 2006 Sep;371(1-2):61-5
63. Turker G, Babaoglu K, Gokalp AS, Sarper N, Zengin E, Arisoy AE. Cord blood cardiac troponin I as an early predictor of short-term outcome in perinatal hypoxia. *Biol Neonate*. 2004;86(2):131-7. Epub 2004 Jun 15
64. Awada H, Al-Tannir M, Ziade M F, Alameh J, El Rajab M. Cardiac troponin T: A useful early marker for cardiac and respiratory dysfunction in neonates. *Neonatology*. 2007;92(2):105-110. Epub 2007 Mar 21
65. Clark S J, Newland P, Yoxall C W, Subhedar N V. Sequential cardiac troponin T following delivery and its relationship with myocardial performance in neonates with respiratory distress syndrome. *Eur J Pediatr*. 2006 Feb;165(2):87-93. Epub 2005 Oct 15
66. Cruz M A, Bremmer Y A, Porter B O, Gullquist S D, Watterberg K L, Rozycki H J. Cardiac troponin T and cardiac dysfunction in extremely low-birth-weight infants. *Pediatr Cardiol*. 2006 Jul-Aug;27(4):396-401
67. Fisher SA, Langille BL, Srivastava D. Apoptosis during cardiac development. *Circ Res* . 2000 Nov 10;87(10):856-64
68. Nem-Yun B, Hasri H., Hapizah MN, Fook-Choe C, Yong-Junina F, Bilkis BA, Zulkifli I. Comparison of serum cardiac troponin T and creatine kinase MB isoenzyme mass concentration in asphyxiated term infants during the first 48 h of life. *J Pediatr Child Health*. 2005 Jul;41(7):331-7

69. Nakata T, Hashimoto A, Hase M, et al. Human heart-type fatty acid-binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome. *Cardiology*. 2003;99(2):96-104
70. Harada K, Shiota T, Takahashi Y, Tamura M, Tyono M, Takada G. Doppler echocardiographic evaluation of left ventricular output and left ventricular diastolic filling changes in the first day of life. *Pediatr Res*. 1997 Apr;35(4 Pt 1):506-9
71. Rowland DG, Gutgesell HP. Noninvasive assessment of myocardial contractility, preload, and afterload in healthy newborn infants. *Am J Cardiol*. 1995 Apr 15;75(12):818-21
72. Anderson PA. The heart and development. *Semin Perinatol*. 1996 Dec;20(6):482-509
73. Noori S, Seri I. Pathophysiology of newborn hypotension outside the transitional period. *Early Hum Dev*. 2005 May;81(5):399-404
74. Marijianowsky MM, van der Loos CM, Mohrschladt MF, Becker AE. The neonatal heart has a relatively high content of total collagen and type I collagen, a condition that may explain the less compliant state. *J Am Coll Cardiol*. 1994 Apr;23(5):1204-8
75. Schiller NB, Shah PM, Crawford M et al. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiogram. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 1989;2:361-7
76. Lipschutz SE, Orav EJ, Sanders SP, McIntosh K, Colan SD. Limitations of fractional shortening as an index of contractility in pediatric patients infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr*. 1994 Oct;125(4):563-70
77. Lee LA, Kimball TR, Daniels SR, Khoury P, Meyer RA. Left ventricular mechanics in the preterm infant and their effect on the measurement of cardiac performance. *J Pediatr*. 1992 Jan;120(1):114-9
78. Skinner J, Alverson D, Hunter S. *Echocardiography for the neonatologist*. Churchill Livingstone 2000, Elsevier Limited.
79. Nagueh SF, Appleton CP, Gillbert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr*. 2009 Mar;10(2):165-93
80. James AT, Corcoran JD, Jain A, McNamara PJ, Mertens L, Franklin O, El-Khuffash AF. Assessment of myocardial performance in preterm infants less than 29 weeks gestation during the transitional period. *Early Hum Dev*. 2014 Oct 29;90(12):829-35
81. Lee A, Nestaas E, Liestøl K, Brunvand L, Lindemann R, Fugelseth D. Tissue Doppler imaging in very preterm infants during the first 24 h of life: an observational study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2014 Jan;99(1):64-9

82. Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C. Reproducibility and optimization of analysis parameters of tissue Doppler-derived strain and strain rate measurements for very low birth weight infants. *Echocardiography*. 2013 Nov;30(10):1219-26
83. Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C. Tissue Doppler-derived strain and strain rate during the first 28 days of life in very low birth weight infants. *Echocardiography*. 2014 Jul;31(6):765-72
84. de Waal K, Lakkundi A, Othman F. Speckle tracking echocardiography in very preterm infants: feasibility and reference values. *Early Hum Dev*. 2014 Jun;90(6):275-9
85. Hirose A, Khoo NS, Aziz K, Al-Rajaa N, van den Boom J, Savard W, Brooks P, Hornberger LK. Evolution of Left Ventricular Function in the Preterm Infant. *J Am Echocardiogr*. 2015 Mar;28(3):302-8
86. Nagdyman N, Fleck T, Schubert S, et al. Comparison between cerebral tissue oxygenation index measured by near-infrared spectroscopy and venous jugular bulb saturation in children. *Intensive Care Med*. 2005;31:846–50
87. van Bel F, Lemmers P, Nauelaers G. Monitoring neonatal regional cerebral oxygen saturation in clinical practice: value and pitfalls. *Neonatology*. 2008;94(4):237–44
88. Jobsis FF, Keizer JH, LaManna JC, et al. Reflectance spectrophotometry of cytochrome aa3 in vivo. *J Appl Physiol*. 1977 Nov;43(5):858-72
89. Mancini DM, Bolinger L, Li H, et al. Validation of near-infrared spectroscopy in humans. *J Appl Physiol*. 1994 Dec;77(6):2740-7
90. van der Zee P, Cope M, Arridge SR, et al. Experimentally measured optical pathlengths for the adult head, calf and forearm and the head of the newborn as a function of inter optode spacing. *Adv Exp Med Biol*. 1992;316:143-53
91. Watzmann HM, Kurth CD, Montenegro LM, et al. Arterial and venous contributions to near-infrared cerebral oximetry. *Anesthesiology*. 2000 Oct;93(4):947-53
92. Dix LM, van Bel F, Baerts W, Lemmers PM. Comparing near-infrared spectroscopy devices and their sensors for monitoring regional cerebral oxygen saturation in the neonate. *Pediatr Res*. 2013 Nov;74(5):557-63
93. Weiss M, Dullenkopf A, Kolarova A, Schulz G, Frey B, Baenziger O. Near-infrared spectroscopic cerebral oxygenation reading in neonates and infants is associated with central venous oxygen saturation. *Paediatr Anaesth*. 2005 Feb;15(2):102-9
94. Zhou CLLiu YF, Zhang JJ, et al. Measurement of birth regional oxygen saturation in neonates in China: a multicentre randomised clinical trial. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2009 Jul;47(7):517-22
95. Sorensen LC, Leung TS, Greisen G. Comparison of cerebral oxygen saturation in premature infants by near-infrared spatially resolved spectroscopy: observations on probe-dependent bias. *J Biomed Opt*. Nov-Dec 2008;13(6):064013
96. Witthaut R. Science review: Natriuretic peptides in critical illness. *Crit Care*. 2004 Oct;8(5):342-9

97. Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J.* 2006 Apr;27(7):861-6
98. Mir TS, Marohn S, Laer S, et al. Plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatrics.* 2002 Dec;110(6):e76
99. Mir TS, Laux R, Hellwege HH, et al. Plasma concentrations of aminoterminal pro atrial natriuretic peptide and aminoterminal pro brain natriuretic peptide in healthy neonates: marked and rapid increase after birth. *Pediatrics.* 2003 Oct;112:896-9
100. Reynolds EW, Ellington JG, Vranicar. et al. Brain-type natriuretic peptide in the diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics.* 2004 Nov;114(5):1297-304
101. Flynn PA, da Graca RL, Auld PA, et al. The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J. Pediatr.* 2005 Jul;147(1):38-42
102. Andersson S, Tikkanen I., Personen E, et al. Atrial natriuretic peptide in patent ductus arteriosus. *Pediatr Res.* 1987 Apr;21(4):396-9
103. Farombi-Oghuvbu I, Matthews T, et al. N-Terminal Pro-B-type natriuretic peptide: a measure of significant patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Neonatal Ed.* 2008 Jul;93(4):257-60
104. El-Khuffash A, Barry D, Walsh K, Davis PG, Molloy EJ. Biochemical markers may identify preterm infants with a patent ductus arteriosus at high risk of death or severe intraventricular haemorrhage, *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008 Nov;93(6):407-12
105. Wu AH, Feng YJ. Biochemical differences between cTnT and cTnI and their significance for diagnosis of acute coronary syndromes. *Eur Heart J.* 1998 Nov;19 Suppl N:N25-9
106. Quivers ES, Murthy JN, Soldin SJ. The effect of gestational age, birth weight, and disease on troponin I and creatine kinase MB in the first year of life. *Clin Biochem.* 1999 Aug;32(6):419-21
107. D Bader et al. Cardiac troponin I serum concentration in newborns: A study and review of the literature. *Clinica Chimica Acta.* 2006 Sep;371(1-2):61-5
108. Hirsch R, Landt Y, Porter S, Canter CE, Jaffe AS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I in pediatrics: normal values and potential use in the assesment of cardiac injury. *J Pediatr .* 1997 Jun;130(6):872-7
109. Turker G, Babaoglu K, Gokalp AS, Sarper N, Zengin E, Arisoy AE. Cord blood cardiac troponin I as an early predictor of short-term outcome in perinatal hypoxia. *Biol Neonate.* 2004;86(2):131-7. Epub 2004 Jun 15
110. Araujo K, da SJ, Sanudo A, Kopelman B. Plasma concentration of cardiac troponin I in newborn infants. *Clin Chem.* 2004 Sep;50(9):1717-8

111. McAuliffe F, Mears K, Fleming S, Grimes H, Morrison JJ. Fetal cardiac troponin I in relation to intrapartum events and umbilical artery pH. *Am J Perinatol.* 2004 Apr;21(3):147-52
112. Trevisanuto D, Pitton M, Altinier S, Zaninotto M, Plebani M, Zanardo V. Cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase MB concentrations in umbilical cord blood of healthy term neonates. *Acta Paediatr.* 2003 Dec;92(12):1463-7
113. Adamcova M. Troponins in children and neonates. *Acta Paediatr.* 2003 Dec;92(12):1373-5
114. Awada H, Al-Tannir M, Ziade M F, Alameh J, El Rajab M. Cardiac troponin T: A useful early marker for cardiac and respiratory dysfunction in neonates. *Neonatology.* 2007;92(2):105-10. Epub 2007 Mar 21
115. Clark S J, Newland P, Yoxall C W, Subhedar N V. Concentrations of cardiac troponin in neonates with and without respiratory distress. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Jul;89(4):348-52
116. Cruz M A, Bremmer Y A, Porter B O, Gullquist S D, Watterberg K L, Rozycki H J. Cardiac troponin T and Cardiac dysfunction in extremely low-birth-weight infants. *Pediatr Cardiol.* 2006 Jul-Aug;27(4):396-401
117. Anon. Troponin T STAT data sheet. Roche Diagnostics GmbH, 1999, Mannheim, Germany
118. Fisher SA, Langille BL, Srivastava D. Apoptosis during cardiac development. *Circ Res .* 2000 Nov;87(10):856-64
119. Clark S J, Newland P, Yoxall CW, Subhedar NV. Cardiac troponin T in cord blood. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001 Jan;84(1):34-7
120. Trevisanuto D, Zaninotto M, Lachin M, Altinier S, Plebsni M, Ferrarase P, et al. Effect of patent ductus arteriosus and indomethacin treatment on serum cardiac troponin T levels in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Eur J Pediatr* 2000 Apr;159(4):273-6
121. Ascherman M, Kardiologie. Galén, 2004, str.344
122. Boo NY, Hafidz H, Nawawi HM, Cheah FC, Fadzil YJ, Abdul-Aziz BB, Ismail Z. Comparison of serum cardiac troponin T and creatine kinase MB isoenzyme mass concentration in asphyxiated term infants during the first 48 h of life. *J. Pediatr. Child Health.* 2005 Jul;41(7):331-7
123. Schaap F G, van der Vusse G J, Glatz J F C. Fatty acid-binding proteins in the heart. *Molecular and cellular Biochemistry.* 1998 Mar;180(1-2):43-51
124. Nakata T, Hashimoto A, Hase M, et al. Human heart-type fatty acid-binding protein as an early diagnostic and prognostic marker in acute coronary syndrome. *Cardiology.* 2003;99(2):96-104
125. Derikx J P M, Evennett N J, Degraeuwe P L J, Mulder T L, A van Bijnen A, E van Heum L W, Buurman W A, Heineman E. Urine based detection of intestinal mucosal cell damage in neonates with suspected necrotising enterocolitis. *Gut.* 2007 Oct;56(10):1473-5

126. Schneiderka P. Laboratorní markery srdečních chorob. *Klin. Biochem. Metab.*, 14(35),2006,No.3,p.161-167
127. Gugliucci A, Hermo R, Monroy C, Numaguchi M, Kimura S. Ischemia-modified albumin levels in cord blood: a case-control study in uncomplicated and complicated deliveries. *Clin Chim Acta.* 2005 Dec;362(1-2):155-60
128. Lipschutz SE, Simbre II VC, Hart S, Rifai N, Lipsitz SR, Reubens L, Sinkin RA. Frequency of elevations in markers of cardiomyocyte damage in otherwise healthy newborns. *Am J Cardiol.* 2008 Sep 15;102(6):761-6
129. Sorensen LC, Greisen G. Precision of measurement of cerebral tissue oxygenation index using near-infrared spectroscopy in preterm neonates. *J Biomed Opt.* 2006 Sep-Oct;11(5):054005
130. Lemmers PM, Toet M, van Schelven LJ, Van Bel F. Cerebral oxygenation and cerebral oxygen extraction in the preterm infant: the impact of respiratory distress syndrome. *Exp Brain Res.* 2006 Aug;173(3):458-67
131. Kajino H, Goldberg S, Roman C, Liu BM, Mauray F, Chen YQ, Takahashi Y, Koch CJ, Clyman RI. Vasa vasorum hypoperfusion is responsible for medial hypoxia and anatomic remodeling in the newborn lamb ductus arteriosus. *Pediatr Res.* 2002 Feb;51(2):228-35
132. Waleh N, Seidner S, McMurrin D, Yoder B, Liu BM, Roman C, Mauray F, Clyman RI. The role of monocyto-derived cells and inflammation in baboon ductus arteriosus remodeling. *Pediatr Res.* 2005 Feb;57(2):254-62
133. Clyman RI, Waleh N, Black SM, Riemer RK, Mauray F, Chen YQ. Regulation of ductus arteriosus patency by nitric oxide in fetal lambs. The role of gestation, oxygen tension and vasa vasorum. *Pediatr Res.* 1998 May;43(5):633-44
134. Gonzales A, Sosenko IR, Chandar J, Hummler H, Claire N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr.* 1996 Apr;128(4):470-78
135. Zak R. Development and proliferative capacity of cardiac muscle cells. *Circ Res.* 1974 Aug;35(2):Suppl II:17-26
136. Simpson P. Stimulation of hypertrophy of cultured neonatal rat heart cells through an alpha 1-adrenergic receptor and induction of beating through an alpha 1- and beta 1-adrenergic receptor interaction. Evidence for independent regulation of growth and beating. *Circ Res.* 1985 Jun;56(6):884-94
137. Olivetti G, Anversa P, Loud AV. Morphometric study of early postnatal development in the left and right ventricular myocardium of the rat. Tissue composition, capillary growth, and sarcoplasmic alterations. *Circ Res.* 1980 Apr;46(4):503-12
138. Roca TP, Pigott JD, Clarkson CW, Crumb WJ. L-type calcium current in pediatric and adult human atrial myocytes: evidence for developmental changes in channel inactivation. *Pediatr Res.* 1996 Sep;40(3):462-8
139. Teitel DF, Sidi DD, Chin T, Brett C, Heymann MA, Rudolph AM. Developmental changes in myocardial contractile reserve in the lamb. *Pediatr Res.* 1985 Sep;19(9):948-55

140. Gilbert RD. Effects of afterload and baroreceptors on cardiac function in fetal sheep. *J Dev Physiol.* 1982 Oct;4(5):299-309

10. Publikace autora

Související s disertační prací:

1. Diastolic ventricular function improves during the first 48-hours-of-life in infants weighting <1250 g

Širc J, Dempsey EM, Miletin J

Acta Paediatr. 2015 Jan;104(1):e1-6. (IF 1,84)

2. Serial N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurement as a predictor of significant patent ductus arteriosus in preterm infants beyond the first week of life

Letshwiti JB, Širc J, O'Kelly R, Miletin J

Eur J Pediatr. 2014 Nov;173(11):1491-6. (IF 1,98)

3. Cerebral tissue oxygenation index, cardiac output and superior vena cava flow in infants with birth weight less than 1250 grams in the first 48 hours of life

Širc J, Dempsey EM, Miletin J

Early Hum Dev. 2013 Jul;89(7):449-52. (IF 1,93)

4. Současné možnosti biochemické analýzy myokardiální dysfunkce u kriticky nemocných novorozenců

Širc J, Straňák Z

Neonatologické listy. 2009, roč. 15, č. 1, s. 3-6