МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
СБАЛАГ „МАЙЧИН ДОМ“ ЕАД

Д-Р ПЕТЯ АНГЕЛОВА РАДУЛОВА

ТЕРАПЕВТИЧЕН ПОДХОД ПРИ ПРИЛОЖЕНИЕТО НА ИНХАЛАТОРЕН АЗОТЕН ОКИС В НЕОНАТАЛНИЯ ПЕРИОД

Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна специалност
03.01.51 Неонатология

НАУЧЕН РЪКОВОДИТЕЛ
Проф. Д-р Боряна Петрова Слънчева, д.м.

София, 2020 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

Използвани съкращения 4
I. Въведение 6
II. Литературен обзор 8
1. Персистираща белодробна хипертония 8
1.1. Етиологични фактори, определящи възникването на PPHN 8
1.2. Методи за обективизиране на тежестта на PPHN 10
1.3. Лечение на PPHN 11
1.4. Белодробни вазодилататори 12
1.5. Нови таргети в терапията на PPHN 23
2. Приложение на iNO при недоносени деца 24
2.1. Клинични проучвания 24
2.2. iNO приложение при деца с PPROM, олигохидрамнион и белодробна хипоплазия 30
2.3. БХ и ХДН при недоносени деца 31
2.4. Дългосрочен Медицински, белодробен и неврологичен изход 33
2.5. NICHD Neonatal Research Network принос 35
3. Бронхопулмонална дисплазия 36
3.1. Патогенеза 36
3.2. Превенция на БПД 39
3.3. Комбинирано приложение на витамин А и iNO за превенция на БПД 43
3.4. Дългосрочни усложнения на БПД 44
III. Цел и задачи 47
IV. Пациенти и методи 48
1. Клиничен контингент 48
2. Изследователски методи 49
2.1. Клинични и лабораторни методи 49
2.2. Статистическите методи за представяне и анализ на данните 53
V. Резултати и обсъждане 55
А. НОВОРОДЕНИ ДЕЦА НАД 34 Г.С. В КРИТИЧНО СЪСТОЯНИЕ 55
1. Характеристика на изследвания контингент 55
2. Анализ на тежестта на основното заболяване преди началото на терапията с iNO 62
3. Анализ на терапевтичния ефект на iNO посредством OI 68
4. Анализ на краткосрочния изход от терапията 74
5. Анализ на дългосрочния изход от терапията 80

В. НОВОРОДЕНИ ДЕЦА ПОД 30 Г.С. В КРИТИЧНО СЪСТОЯНИЕ 83
1. Характеристика на изследвания контингент 83
2. Анализ на терапевтичния ефект на iNO при недоносени деца 94
2.1. Анализ на ефекта на iNO при недоносени деца с Белодробна хипертония 94
2.2. Анализ на краткосрочния изход от терапията с iNO при недоносени деца 99
3. Анализ на дългосрочния изход от терапията с iNO при недоносени деца 105
3.1. Бронхопулмонална дисплазия 105
3.2. Ретинопатия на недоносеността 108
3.3. Трансфонтанелна ехография 108
3.4. Други 111
VI. Изводи 112
VII. Приноси 116
VIII. Книгопис 117
Приложения 132

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АВ	Апаратна вентилация
БПД	Бронхо-пулмонална дисплазия
БХ	Белодробна хипертония
г.с.	Гестационна седмица
ДЦП	Детска церебрална парализа
ЕТ-1	Ендотелин-1
ИВК/IVH	Интравентрикуларен кръвоизлив
КСД	Кортикостероиди
МАС	Мекониален аспирационен синдром
НПР	Нервнопсихическо развитие
ПАК	Персистиращ артериален канал
РДС	Респираторен дистрес синдром
ХДН	Хипоксична дихателна недостатъчност
cAMP	Цикличен аденозин монофосфат
cGMP	Цикличен гуанозин монофосфат
ECMO	Екстракорпорална мембранна оксигенация
ELBW	Екстремно ниско тегло при раждане
FiO_2	Фракция на кислород в подаваната газова смес
GC	Гуанилат циклаза
Hb	Хемоглобин
HFOV	Високочестотна осцилаторна вентилация
ICH	Вътречерепен кръвоизлив
iNO	Инхалаторен азотен окис
INSURE	Интубация, Сърфактант, Екстубация
MAP	Средно налягане в дихателните пътища
MSCs	Мезенхимни стволови/прогениторни клетки
nCPAP	Назално Продължително Положително Налягане
NICU	Неонатално интензивно отделение
OI	Оксигенационен индекс
OSI	Оксигенационен сатурационен индекс
OR	Отношение на рисковете (Odds Ratios)
$PaCO_2$	Парциално артериално налягане на въглероден двуокис
PaO_2	Парциално артериално налягане на кислорода
PDE5/3/6	Фосфодиестераза 5/3/6
PEEP	Крайно експираторно налягане
PGE_1	Простагландин E_1
PGI_2	Простациклин

ppm	Частици за милион
PPHN	Персистираща белодробна хипертония
pPROM/ППОМ	Преждевременно пукнат околоплоден мехур
PVL	Перивентрикуларна левкомалация
RCT	Рандомизирано контролирано проучване
ROP	Ретинопатия на недоносените
RSV	Респираторно синцитиален вирус
SpO_2	Кислородна сатурация
Qp	Белодробен кръвоток

I. ВЪВЕДЕНИЕ

През последните десетилетия се наблюдава съществено подобряване в неонаталната преживяемост при деца с ниско и екстремно ниско тегло. Дължи се на усъвършенстване на пренаталната и перинаталната диагностика и лечение [4,7]:

1. Рутинно се прилагат пренатални кортикостероиди за профилактика на белодробна зрялост.

2. Променен и усъвършенстван е протоколът за реанимация на недоносени новородени деца.

3. Пулсоксиметрията е основен метод за мониториране на концентрацията на подавания кислород за реанимация и лечение.

4. Рутинно се прилага Сърфактант терапия след раждането при незрели деца с хиалинно-мембранна болест.

5. Използват се нови методи на апаратна вентилация, вкл. неинвазивна апаратна вентилация.

6. Усъвършенствани са протоколите за тотално парентерално хранене и ранно минимално ентерално хранене.

Подобрената преживяемост при отглеждането на все по-малки и незрели деца фокусира вниманието на неонатолозите към превенция на хроничните усложнения и увреждания: Бронхо-пулмонална дисплазия (БПД), Ретинопатия на недоносените (ROP), трайни неврологични увреждания след интравентрикуларни кръвоизливи (ИВК) и перивентрикуларна левкомалация.

Честотата на БПД е следната [4]: при 100% от децата 22-23 г.с., 35%-40% от децата с тегло 750-1000 гр., 7% от родените с тегло 1400-1500 гр., намалява до 0% при родените след 33 г.с.

БПД е социално значимо заболяване поради следните факти:

- забавено физическо и невропсихическо развитие на децата;
- повишен риск от хиперреактивност на бронхиалното дърво и бронхиална астма в ранна детска възраст;
- повишен риск от инфекциозни заболявания през първата година от живота-RSV инфекции, бактериални инфекции;
- повишен риск от смърт (30-60%) през първата година от живота.

Лечението на БПД е комплексно. Използват се множество медикаменти от различни групи: системни и инхалаторни кортикостероиди, диуретици, калциеви антагонисти, фосфодиестеразни инхибитори, метилксантини, антиоксиданти. За съжаление чрез множество проучвания е доказано, че нито един от тези медикаменти не намалява тежестта и смъртността от БПД. Това е причината да

се търсят нови методи за превенция на развитието на това социално значимо заболяване.

В последните години се налагат нови техники на апаратна вентилация [1,6]: неинвазивна апаратна вентилация (nCPAP), INSURE (интубация, Сърфактант, екстубация), обдишване с ниски кислородни концентрации, ниски дихателни обеми и налягания, стремеж към по ниски таргетни кислородни сатурации на новородените деца. В процес на проучване са редица нови медикаменти, като антиоксиданти, ендотелинови рецепторни антагонисти, които биха прекъснали патогенетичната верига на БПД. Медикамент, на който се възлагат големи надежди за превенция на „новата“ форма на БПД, е инхалаторният азотен окис (iNO). Ето защо темата за приложение на (iNO) в неонаталния период, както при доносени, така и при недоносени деца, става изключително актуална и дава основание за разработване на настоящия дисертационен труд.

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

Инхалаторният азотен окис (iNO) представлява белодробен вазодилататор, играещ важна роля в регулацията на съдовия мускулен тонус. Прилагането на iNO се налага като метод на лечение на новородени деца с хипоксична дихателна недостатъчност, възникваща в резултат на персистиращо високо белодробно съдово съпротивление и дясно-ляв шънт през артериалния канал, форамен овале и интрапулмонални канали. Това състояние се нарича персистираща белодробна хипертония (PPHN) при новороденото. Множество проучвания доказват, че iNO подобрява оксигенацията и намалява както риска от смърт, така и нуждата от приложение на Екстракорпорална мембранна оксигенация (ECMO) при новородени над 35 гестационна седмица [184,41].

При екстремно недоносени деца (ELBW) е установено, че iNO подобрява ендогенната продукция на Сърфактант и стимулира ангиогенезата и алвеологенезата. За първи път инхалаторен NO при новородени се прилага от 1992г., а от 1999г. в САЩ той е утвърден като метод за лечение на PPHN при новородени с гестационна възраст 35 и повече г.с. Същевременно инхалаторната терапия с NO е първата базирана на доказателства стратегия за лечение на деца с пулмонална хипертония и тежка хипоксемия. Препоръките са направени на базата на две големи рандомизирани мултицентрични проучвания при новородени с прояви на тежка дихателна недостатъчност и хипоксемия, които показват подобър изход при приложение на iNO в сравнение с плацебо. Проучването NINOS (Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study) показва, че iNO намалява необходимостта от ECMO без увеличение на неврологичните нарушения на двугодишна възраст. Проучването CINORG (Clinical Inhaled Nitric Oxide Research Group) установява, че iNO намалява, както необходимостта от ECMO, така и честотата на хронична белодробна болест [136,137,217]. Впоследствие и други проучвания в САЩ и Европа доказват ефикасността и сигурността на метода при новородени с близка до термина гестационна възраст.

1. Персистираща белодробна хипертония

1.1. Етиологични фактори, определящи възникването на PPHN

Животозастрашаваща дихателна недостатъчност, възникваща в резултат на персистиращо високо белодробно съдово съпротивление и дясно-ляв шънт през артериалния канал, форамен овале и интрапулмонални канали, се нарича персистираща белодробна хипертония (PPHN) при новороденото [49,105,219,196]. Най-често PPHN се свързва със следните три етиологични причини [5,8]:

- Остро възникваща вазоконстрикция на белодробните съдове

- Хипоплазия на белодробното съдово русло
- Идиопатична белодробна хипертония

Остра белодробна вазоконстрикция

Представлява най-честата причина за PPHN [47], възникваща в резултат на остър перинатален инцидент, като:

- Алвеоларна хипоксия, вследствие на паренхимно белодробно заболяване, позната още като „вторична PPHN" – мекониален аспирационен синдром (МАС) и пневмония.
- Хиповентилация, в резултат на асфиксия или други неврологични състояния; нарушена кардиопулмонална адаптация при Транзиторна тахипнея и РДС (респираторен дистрес синдром).
- Хипотермия.
- Хипогликемия.
- Интраваскуларна обструкция, вследствие на синдром на хипервискозитет – полицитемия.
- Белодробна хипертония (БХ) при недоносени деца в първата фаза на РДС [53]. В първите няколко дни след раждането екстремно недоносените новородени деца са застрашени от развитието на БХ и хипоксична дихателна недостатъчност. Феталното съдово съпротивление е високо през каналикуларната фаза от развитието на белия дроб, вследствие на богата съдова мрежа и малкия лумен. В средата на бременността белодробните съдове са слабо чувствителни към вазодилатиращия ефект на кислорода. Тези деца реагират типично слабо на инхалаторни вазодилататори [140,57], какъвто е iNO. Въпреки това има група недоносени деца, родени от бременност, протекла с продължителна руптура на околоплодния мехур и олигохидрамнион, които развиват типична PPHN физиология (характерна за доносени деца) и които показват по-добър отговор при терапия с iNO.
- Белодробна венозна хипертония [215,109,148,32].

Хипоплазия на белодробното съдово русло

- Вродена диафрагмална херния.
- Белодробна хипоплазия при олигохидрамнион.
- Вродена кистична аденоматоидна малформация.

Идиопатична белодробна хипертония

Една от причините за възникване на идиопатична PPHN е констрикция или преждевременно затваряне на дуктус артериозус вътреутробно в резултат на пренатална експозиция на нестероидни противовъзпалителни средства (ибупрофен) [16,51] през третия триместър на бременността. Друга възможна причина е намалена ендогенна продукция на NO [227], намалена бионаличност на NO, както и намалена чувствителност на съдовия ендотел към действието на ендогенни вазодилататори [180]. Това заболяване често се среща в литературата под името „black lung PPHN", което е резултат от характерната рентгенологична снимка: липса на белодробно паренхимно заболяване и беден белодробен съдов рисунък. Хистологичното изследване по време на аутопсия при тези новородени показва ремоделиране на белодробните съдове със значимо задебеляване на съдовата стена и гладко - мускулна хиперплазия. Нещо повече – гладко мускулни клетки се наблюдават в интраацинарните артериоли, което нормално не се среща при здрави новородени деца. В резултат на тези морфологични промени не се осъществява белодробна вазодилатация след раждането и се развива тежка хипоксемия.

PPHN се среща с честота 1-2/1000 живородени деца. Смъртността е изключително висока, достигаща до 40% в центрове, които не разполагат с възможност за Екстракорпорална мембранна оксигенация. Честотата на неврологичните увреждания, вследствие на заболяването, също е висока и достига до 15-60% [1,6].

1.2. Методи за обективизиране на тежестта на PPHN

Обективно оксигенацията (тежестта на заболяването) се определя чрез използване на следните индекси:

- **Оксигенационен индекс (OI)** = FiO_2 х средно налягане в дих. пътища х 100/PaO_2

Според OI заболяването PPHN се определя като:

- Лека PPHN <15 OI
- Умерена PPHN 15≥25 OI
- Тежка PPHN 25≥40 OI
- Много тежка PPHN >40 OI

- **P/F отношение:** PaO_2/ FiO_2 – отношението между парциалното артериално налягане на O_2 и концентрацията на подавания инспираторен O_2 [92].

Според P/F заболяването PPHN се определя като:

- Лека PPHN >200≤300 mmHg

- Умерена PPHN >100≤ 200 mmHg
- Тежка PPHN ≤100 mmHg
    - **Оксигенационен сатурационен индекс (OSI)** [192] - за разлика от останалите индекси е неинвазивен и се изчислява по следната формула:
- Средно налягане в дихателните пътища MAP x FiO_2 x 100/ предуктална SpO_2.
- OI ≈ 2 x OSI [191].
- Сравнително точно корелира с тежестта на PPHN, която се определя като: лека ≤ 7,5, умерена 7,5 до≤ 12,5, тежка 12,5 до ≤20 и много тежка > 20.
- Отношението между SpO_2 and PaO_2 (кислородна дисоциационна крива) се променя от различни фактори: тип на хемоглобин, температура, pH; тези фактори биха могли да засегнат чувствителността на OSI.
- Поради специфичната форма на кислородната дисоциационна крива трябва да се има предвид, че OSI не е надежден показател за оценка на тежестта на заболяването при много ниски или съответно много високи стойности на предукталната SpO_2.

1.3. Лечение на PPHN

Лечението на PPHN е комплексно и често неефективно. Започва се с прилагане на стандартните интензивни грижи. Коригират се наличните метаболитни и електролитни отклонения: хипогликемия, хипокалциемия, хипомагнезиемия. В основата на патогенезата на PPHN е Д-Л шънт поради супрасистемно белодробно налягане. Затова основна цел е да се постигне системно артериално налягане, което е по-високо от белодробното налягане. Това става чрез преодоляване на системната артериална хипотония и поддържане на добра периферна перфузия. Друга група мерки са насочени към понижение на белодробното съдово съпротивление. Така Д-Л шънт през Дуктус артериозус първоначално намалява, известен период от време може да е налице двупосочен шънт до настъпване на функционалната му констрикция и прекъсване на кръвотока през него.

Стабилизирането на системното налягане и възстановяване на съдовия обем става чрез: адекватна инфузионна терапия на водно-електролитни и белтъчни разтвори, използване на вазопресори като Допамин (2-10 мкг/кг/мин) и Добутамин (2.5-25мкг/кг/мин). По време на интензивната терапия се цели минимизиране на външните дразнения – "minimal handling". При деца на апаратна вентилация често се налага седиране и релаксация, както и използване на синхронизирани режими на вентилация [232]. От голямо значение при това заболяване е корекцията и/или недопускане на хипотермия, хипогликемия, ацидоза (метаболитна и респираторна), хиповолемия, хипокалциемия.

Успешното лечение на PPHN зависи до голяма степен от поддържането на адекватен газообмен и оксигенация. Хипероксията подпомага белодробната вазодилатация. Поради това, според последни проучвания, се препоръчва поддържане на умерена хипероксия в границите на PaO_2 70-80mmHg и SpO_2 94-98% при доносени новородени [146,147]. Апаратната вентилация, включително и използването на високочестотни режими на вентилация, също определя успеха на прилаганото лечение. Стремежът в последните години е да се използват „помеки" режими на вентилация, синхронизирани със собственото дишане на пациента и таргетни показатели по време на обдишване - PaO2 70-80 mmHg, $PaCO_2$ 35-45 mmHg, pH 7.45-7.50.

Ендогенният Сърфактант се инактивира при Пневмония, Мекониален аспирационен синдром, Сепсис. Заместителната терапия със Сърфактант води до увеличаване на оксигенацията чрез подобряване на отношението вентилация /перфузия и намаляване на интрапулмоналните шънтове. При новородени с белодробно паренхимно заболяване сърфактант заместителната терапия преди започване на лечението с iNO води по-често до благоприятен изход и намалява необходимостта от Екстракорпоралната мембранна оксигенация /ECMO/ [134].

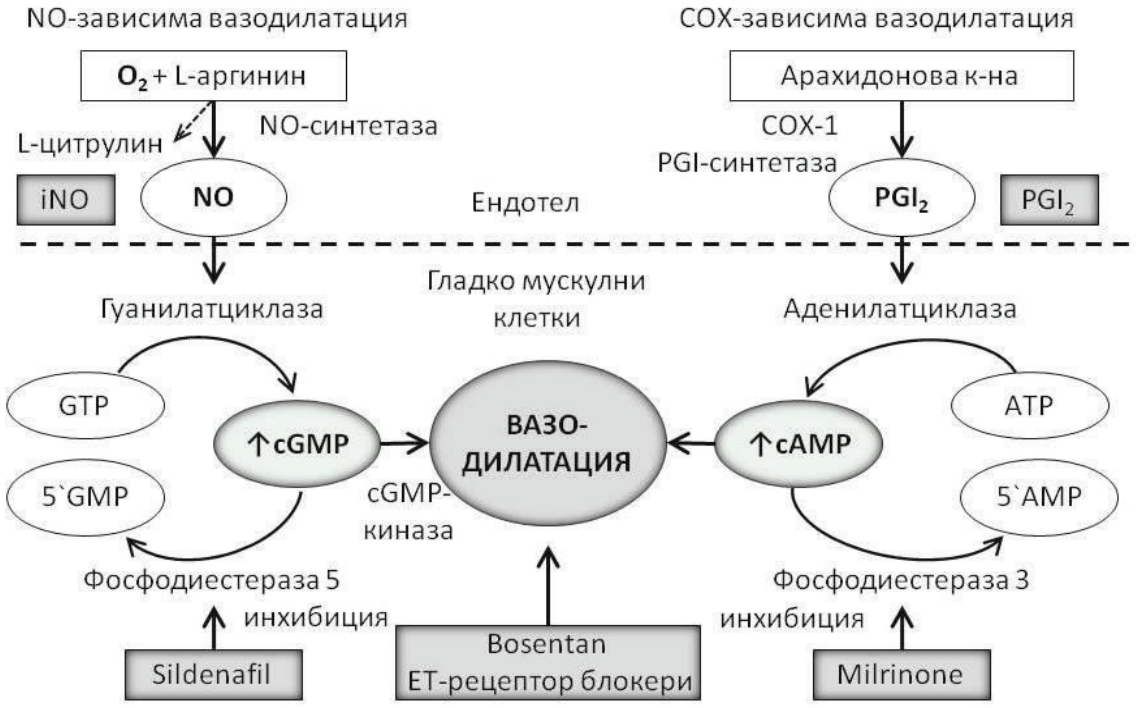
Екстракорпоралната мембранна оксигенация /ECMO/ се прилага при новородени с рефрактерна на останалите терапевтични методи белодробна хипертония. Метод на избор е при новородени с тежка дихателна недостатъчност, вентилирани по-малко от 10-14 дни, при които въпреки прилаганото лечение, оксигенациония индекс (OI: FiO_2 х средно налягане в дих. пътища х 100/PaO_2) е над 40. Контраиндикации за провеждане на ECMO са: възраст<34г.с., тежки степени на интравентрикуларни кръвоизливи, коагулационни нарушения, необратими неврологични увреждания, тежки генетични аномалии. В последните две десетилетия броят на новородените, индицирани за ECMO, значително намалява, поради прилагане на осцилаторната вентилация и инхалаторен азотен окис, както и от разширяване на индикациите за апликация на екзогенен сърфактант. Освен това се наблюдава промяна на популацията пациенти, нуждаещи се от ECMO, поради това, че повечето пациенти с белодробна хипертония отговарят на новите методи на лечение.

1.4. Белодробни вазодилататори

Медикаментите, които повлияват патогенезата на PPHN са белодробните вазодилататори. В последните години редица проучвания изследват механизма на действие на т.н. „селективни" вазодилататори (**фиг.1**) - медикаменти, които имат минимален ефект върху системното налягане и следователно по-малко странични ефекти [2].

Медикамент на първи избор е **<u>инхалаторният азотен окис.</u>**

В белодробния ендотел под действие на ензима NO-синтаза от L-аргинин се образува NO. Той навлиза в съдовите мускулни клетки, където активира ензима гуанилат циклаза и довежда до увеличена продукция на цикличен гуанозин монофосфат [133]. Цикличният гуанозин монофосфат представлява селективен белодробен вазодилататор, който подобрява отношението вентилация / перфузия и оксигенацията (**фиг. II.1**).



Фигура II.1. Патогенетични механизми на влияние върху белодробната вазодилатация.
(COX-Cycloxigenase, PG-Prostaglandine, GTP– Guanosintrophosphate, cGMP–cyclic Guanosinmonophosphate, cAMP–cyclic Adenosinmonophosphate, ET–Endothelin)

<u>Белодробни вазодилататори, които действат чрез cGMP пътя.</u>

Ендогенният NO се образува в ендотелните клетки, дифундира в гладката мускулатура на съдовете и води до вазодилатация по вече описания механизъм. Екзогенният iNO има механизъм на действие, аналогичен на ендогенния. Когато се подава инхалаторно, той дифундира в дихателните пътища и алвеоли директно в стената на белодробните съдове, води до тяхната дилатация, след което попада в белодробното кръвообращение. Тук той бързо се свързва с хемоглобина, образувайки метхемоглобин, който впоследствие се метаболизира от ензима метхемоглобинредуктаза. Времето на полуразпад е много кратко: 3-6 sec. На практика iNO почти изцяло се инактивира в белодробното кръвообращение и влиянието му върху системната циркулация е незначително, т.е. липсва системна

хипотония. Друг позитивен ефект е подобреното отношение вентилация/перфузия, което се обяснява с факта, че iNO действа предимно върху съдове, които перфузират по-добре вентилирани алвеоли. Първите проучвания предлагат твърде широки вариации в дозирането (5-80ppm), като странични ефекти се проявяват предимно при много високи концентрации [106]. Потенциалната токсичност на iNO се свързва с образуването на NO_2 при контакт с кислорода, както и на пероксинитрити при наличие на супероксидния свободен O_2-радикал [120]. Подаването на iNO трябва да става в максимална близост до дихателните пътища на пациента, за да се ограничи времето на контакт с кислорода и образуване на токсичния NO_2. Поради това при интубирани деца смесването с въздушната смес става чрез Y-връзка в проксималния край на ендотрахеалната тръба, а при деца със спонтанно дишане – в горните дихателни пътища.

До момента iNO е доказано ефективен метод при новородени с пулмонална хипертония с гестационна възраст над 34 г.с. [224], както и при кърмачета след сърдечни операции или белодробна хипертония, вследствие на тежка бронхопулмонална дисплазия.

Редица проучвания са изследвали **потенциалната токсичност на iNO** [112]**.**

Странични ефекти се проявяват едва при много високи дози – от порядъка на 80ppm. Повишен метхемоглобин над 7% е установен при 35% от децата, третирани с 80ppm [65]. При пациенти с вроден дефицит на ензима метхемоглобинредуктаза приложението на iNO, дори и в ниски дози, може да доведе до метхемоглобинемия и тежка тъканна хипоксия. Затова стойностите на метхемоглобина трябва да се мониторират 4-6 ч. след започване на терапията с iNO, и веднъж на 24ч. след това. Съществува и транскутанно непрекъснато мониториране на концентрацията на метхемоглобин, което е от голямо практическо значение, поради неинвазивност и непрекъснатост на метода. Потенциална токсичност на iNO, свързана с повишение на NO_2 (над 3ppm) е наблюдавана при 19% от пациентите с прилагана максимална доза от 80ppm. На практика такава висока доза не се оказва по-ефективна по отношение на подобрението на оксигенацията в сравнение с препоръчваните за рутинно приложение 5-20ppm. При много тежка хипоксемия все пак се смята, че прилагането на 40-80ppm е допустимо за кратък интервал от време, без това да увеличава съществено риска от странични ефекти.

Тъй като NO е тромбоцитен антиагрегант, теоретично са възможни хеморагични прояви, но отново при много високи концентрации.

iNO е контраиндициран за приложение при новородени с Вродени сърдечни аномалии с дуктус зависимо системно кръвообръщение (Прекъсната аортна дъга, Хипопластично ляво сърце). Съществува висок риск за белодробен оток при пациенти с лявокамерна дисфункция, които се поставят на лечение с iNO. Тези причини обосновават задължителното провеждане на ехокардиография преди започване на терапия с медикамента – не само за поставяне на диагнозата PPHN и оценка на дясно-левите шънтове, но и за изключване на Вродени сърдечни аномалии.

Има противоречиви данни по отношение на най-подходящото време за започване на терапията с iNO при хипоксична дихателна недостатъчност. OI 25 е свързан с 50% риск от летален изход или необходимост от провеждане на ECMO [28], докато OI 40 се приема универсално като индикация за ECMO. Konduri et al доказват, че по-ранното начало на iNO при OI 15-25 не намалява нуждата от ECMO, но може да има положителен ефект, свързан с намаляване на риска от прогресия на тежката хипоксична дихателна недостатъчност [135]. Въз основа на съвременните налични познания, приемлива индикация за начало на терапията с iNO е OI>15-25 и ехокардиографски данни за PPHN, или по-висок OI с или без данни за дясно-ляв шънт.

Препоръчваната начална доза е 20 ppm при OI>20. Очакваният отговор е бърз: в рамките на 30 мин. би следвало постдукталното PaO_2 да се увеличи с повече от 20mmHg. Ако липсва отговор дозата на азотен окис може да се увеличи до 40ppm. След спадане на OI под 10 започва бавно отвикване чрез редукция на дозата през 4 до 6 часови интервали. След трайно подобрение на оксигенацията (стабилни нива на PaO_2 за 6-12ч. и понижение на OI) концентрацията на iNO се редуцира бързо до 5 ppm или стъпаловидно с по 5 ppm през 4-6ч до достигане на 5ppm, ако оксигенацията остава стабилна. Ако състоянието на детето се влоши („rebound" ефект – понижение на оксигенацията), незабавно се използва предхождащата по-висока доза. „Rebound" феноменът вероятно се дължи на подтискане на активността на ендотелната синтетаза на азотен оксид от екзогенно приложения iNO. След достигане на 5ppm отвикването от iNO става по-бавно: понижение с 1 ppm на всеки 4-6ч с цел да се предотврати рецидив на пулмоналната хипертензия[208]. Очакваната продължителност на терапията е между 48 и 96 часа.

Интересен е фактът, че по отношение на отвикването и редукцията на iNO липсва ясен консенсус. През 2015г. Anita M. Ware et al [26] разглеждат над 2000 статии, свързани с приложението на iNO в неонаталния период. В проучванията са включени 1735 новородени, доносени и недоносени със средно тегло 3.3кг (± 2кг). Основните диагнози са MAC, РДС, някои вродени сърдечни малформации – Атриален септален дефект, d- Транспозиция на големите съдове, Пулмонална атрезия, Хипопластично ляво сърце; Пневмония, Сепсис, PPHN, Хидропс, Белодробен кръвоизлив. Средната доза на използван iNO е 20ppm (2-80ppm), средната продължителност на лечението е 2 ± 2 дни (15мин. до 7 дни). Всички разгледани протоколи за отвикване се различават по отношение на начална доза, продължителност на лечението, продължителност между стъпките на промяна на дозата, допълнителни медикаменти, които са използвани при отвикването, увеличението на FiO_2 при отвикването. Процесът на отвикване се базира на различни показатели като: FiO_2, PaO_2, O_2 сатурация, и белодробно артериално налягане. Заключението на авторите е, че липсва единен консенсус по отношение на методът за отвикване при тази терапия. Според тях най-удачно е стъпаловидното отвикване със

стартова доза 20ppm и редукция на стъпки с по 5ppm до достигане на поддържаща доза от 5ppm, последвана от бавна редукция с по 1ppm до преустановяване на лечението. Този процес се осъществява при мониториране на кръвно-газовите параметри и кислородната сатурация и позволява при необходимост повишаване на FiO_2 по време на намаляване на дозата на медикамента. Описаният протокол не е подходящ за всяка патология, но е сигурна отправна точка с възможност за индивидуален подход при всеки пациент.

Cochrane Database of Systematic Reviews 2017 [42], обхващащ 17 клинични проучвания, които сравняват терапията с iNO и стандартна терапия за PPHN прави следните изводи:

- iNO е безопасен и може да помогне на доносени новородени деца с дихателна недостатъчност, които не отговарят на други методи на подпомагане.
- iNO подобрява оксигенацията и увеличава шанса на новородените да оцелеят без ECMO (високо рисков метод на лечение, с редица странични ефекти и усложнения).
- Позитивен ефект на медикамента не се отчита при лечение на деца с дихателна недостатъчност, възникваща при Вродена диафрагмална херния.
- Не се установяват краткосрочни и дългосрочни странични ефекти при лечение с iNO.
- Не се открива корелация между по-ранно започнато лечение и по-благоприятен ефект, както и изход (вкл. летален) от заболяването.

Пациенти, при които се отчита добър ефект от терапията с iNO се наричат „ responder" група. В клиничната практика се счита, че ефектът на медикамента е добър при понижение на OI с >20% или изчезване на разликата между предукталната и постдукталната кислородна сатурация след започване на терапията с iNO. Според литературни данни около 40% от лекуваните деца с PPHN не отговарят на терапията с инхалаторен азотен окис [222]. Причините са различни [170], но обикновено са свързани с наличието на паренхимни белодробни заболявания, фиксирана белодробна хипертония или левостранна сърдечна недостатъчност, която води до венозна белодробна хипертония. Проучвания [111], изследващи факторите, които оказват влияние върху отговора към iNO, установяват, че новородени с по-нисък начален OI, ниско MAP (mean airway pressure, средно налягане в дихателните пътища), бърз отговор още в първия час на терапията и пациенти с РДС (респираторен дистрес синдром) са „responders". При новородени с MAC (мекониален аспирационен синдром) добър отговор към терапията с този белодробен вазодилататор се отчита при едва 50%.

Според проучване от 2016г. на Morel AA et al [170] ранни предиктивни фактори за пациенти, които е по-вероятно да не отговорят на терапията са: ниско pH и хипотония, изискваща пресорно подпомагане преди началото на терапията с iNO.

Силденафилът (Виагра, Ревацио) е инхибитор на фосфодиестераза 5. Той потенцира вазодилататативния ефект на NO, като затруднява разграждането на цикличен гуанозинмонофосфат (cGMP). Обичайно се прилага в доза - Sildenafil 0.5-2 mg/kg/dose през 6-8 часа per os. Интравенозно се използва насищаща доза от 0.42 mg/kg за 3 часа, последвана от поддържаща доза от 0.33 μg/kg/min [54].

В неонаталния период Силденафил се използва при следните три показания [143,172]:

- В комбинация с iNO при резистентна на iNO PPHN или по време на отвикване на терапията с азотен окис.
- Като начално лечение на PPHN, когато липсва iNO или има контраиндикации за неговото приложение.
- При продължителна терапия на БХ при БПД или Вродена диафрагмална херния.

Силфенафил не е одобрен медикамент за приложение в неонаталния период [11]. До този момент липсват рандомизирани проучвания за ефектите му при новородени. Приложението му се базира на експериментални изследвания с животни и на редица малки клинични проучвания в неонаталния период [37].

В експериментални проучвания със Силденафил е установено, че медикаментът води до намаляване на белодробната съдова резистентност, на деснокамерната хипертрофия [173,178] и на дебелината на медията на стената на белодробните артерии. Силденафил може да се използва в комбинация с iNO или самостоятелно за превенция на "rebound" БХ по време на редукция на дозата на подаван iNO. Доказано е, че при хипероксия се увеличава концентрацията на фосфодиестераза 5 (PDE_5) и на инхибиторите на PDE_5, като този физиологичен ефект може да се използва чрез приложение на хипероксична вентилация [78].

Установено е, че фосфодиестеразните инхибитори дилатират белодробните съдове несъответно на вентилационния статус и могат да доведат до нарушения в отношението Вентилация/ Перфузия, а това да влоши оксигенацията. Освен това, за разлика от iNO, често началната терапия с PDE_5 инхибитори се съпътства от системна вазодилатация и хипотония. Поради тази причина кръвното налягане трябва да бъде стриктно следено при този вид терапия, а интраваскуларният обем оптимизиран, преди стартиране на терапията. Силденафил се метаболизира през черния дроб, поради това следва да се прилага внимателно при новородени с чернодробни нарушения.

Редица проучвания описват ефекта на Силденафил при недоносени новородени деца с Бронхопулмонална дисплазия и белодробна хипертония. Терапията при тези деца е продължителна, добре толерирана и ефективна. Силденафил не е строг PDE_5 инхибитор. Известно е, че медикаментът инхибира и други изоформи на ензимът фосфодиестераза, но с активност около 1/10 от активността към PDE_5. Такъв ензим е фосфодиестераза тип 6 (PDE_6), който се среща в ретината. Поради тази причина редица клинични проучвания изследват наличието на връзка между Силденафил и развитие и/или влошаване на Ретинопатия на недоносените по време на терапия [12]. На този етап липсват категорични данни по отношение на този ефект, но следва Силденафил да се използва с повишено внимание при недоносени деца [235].

Известно е, че L-Arginine е прекурсор за синтез на NO в белодробния ендотел. При деца с PPHN са установени ниски нива на L-Arginine [159]. Поради тези причини в рандомизирани проучвания при новородени с БХ е прилаган венозно разтвор на медикамента в доза 500mg/kg/30min. Установено е понижение на OI с 33-50% в рамките на 5 часа след приложение на инфузията. Не са описани странични ефекти, но разтворът за венозно приложение е много нестабилен и това възпрепятства неговото приложение.

L-Citrulline е прекурсор на аргинина, по-стабилен е и е възможно перорално му приложение. Fike et al [81] установяват, че нарушения на L-Citrulline - L-Arginine – NO обмяната са в основата за развитие на PPHN. Хипоксията намалява продукцията на NO в белодробните артериални ендотелни клетки, чрез въздействие върху NO – синтетазата, която е отговорна за синтеза на NO от L-Arginine. Интересен факт е, че въпреки, че L-Arginine суплементация може да подобри NO сигнализирането, оралният цитрулин е по-ефективен от аргинина за повишаване на концентрацията на L-Arginine и има по-малко странични ефекти. За съжаление все още липсват публикувани клинични проучвания за ефекта на медикамента в неонаталния период.

Белодробни вазодилататори, които действат чрез cAMP пътя.

Арахидонова киселина – простациклин пътя също играе важна роля при регулацията на адаптацията на белодробните съдове след раждането. Простагландините активират ензима аденилатциклаза, който повишава концентрацията на cAMP в съдовите гладко - мускулни клетки. Простагландинови деривати са в основата на лечението на белодробната хипертония при възрастни пациенти. В белодробните съдови гладко - мускулни клетки PDE 3A е важен ензим, който разгражда cAMP и който се инхибира от Милринон. При проучвания при животни е установено, че NO увеличава активността на PDE 3A, а този ефект обяснява повишената активност на Милринон при NO резистентна PPHN [162,116,115].

Два класа простагландини имат терапевтичен ефект при PPHN: Простациклин (PGI_2) и Простагландин E_1 (PGE_1). При новородени PGI_2 частично медиира белодробната съдова вазодилатация при раждане в отговор на започналата вентилация на белите дробове и не играе роля при вазодилатацията в отговор на оксигенацията [171]. Простагландиновите аналози се използват при белодробна артериална хипертония при възрастни пациенти и деца. Тези медикаменти се прилагат в повечето случаи венозно и имат много кратък полуживот. Най-често използваните простагландинови аналози са следните:

- Epoprostenol (венозно)
- Treprostinil (орално, венозно, подкожно)
- Iloprost (венозно, инхалаторно)
- Beraprost (орално)

Епопростенол (Epoprostenol) се използва рутинно при белодробна артериална хипертония при възрастни пациенти. Артериалната хипотония, която се наблюдава като страничен ефект, ограничава неговото приложение в неонаталния период. Късият му плазмен полуживот от 6 мин. определя приложението му само в непрекъсната венозна инфузия. За минимизиране на системния ефект на медикамента в последните години се използва инхалаторно, чрез небулизиране на венозния разтвор. В проучвания при животни и възрастни пациенти се доказва, че този начин на приложение води до намаляване на белодробното налягане, без развитие на артериална хипотония.

Опитът с Епопростенол при новородени с PPHN се ограничава до описание на клинични случаи и малки проучвания. Обикновено е прилаган чрез ендотрахеален болус или продължителна ендотрахеална инфузия [66] при деца с рефрактерна на iNO PPHN или в центрове, които не разполагат с iNO [126,13]. Ефектът при описаните клинични случай обикновено е бързо подобрение на оксигенацията. Заключението на авторите е, че медикаментът има ефект при новородени с PPHN, които имат нарушение на cGMP – зависимата белодробна вазодилатация и следователно при тях се получава терапевтичен ефект от медикаменти, които действат чрез cAMP – пътя. Разтворът за небулизация има алкално pH и до този момент не е установено как това се отразява върху неонаталните дихателни пътища.

За приложението на Трепростинил и Берапрост в неонаталния период има много ограничени данни [161,175].

Илопрост /Iloprost (венозно, инхалаторно) е използван самостоятелно или в комбинация с iNO в няколко клинични проучвания. В проучване, включващо 47 новородени с PPHN е сравнен ефекта му с този на Силденафил [122]. Резултатите са, че в групата на новородени, лекувани с Илопрост, продължителността

на терапевтичния ефект е била по-дълга и децата са имали по - малка нужда от инотропно подпомагане. В проучване на 33 новородени с тежка PPHN интравенозният Илопрост чувствително е понижил OI, въпреки че, необходимостта от инотропно подпомагане е била повишена [118].

PGE_1 (Алпростадил) се използва в неонаталния период като продължителна интравенозана инфузия за поддържане на отворен артериален канал (Дуктус артериозус) при дуктус - зависимо системно и белодробно кръвообръщение. При ретроспективно проучване при новородени с PPHN без дуктус–зависим сърдечен порок, при които PGE_1 е приложен по време на транспорт, е установено, че тези деца имат по–кратък болничен престой. Предполагаемият ефект е белодробна вазодилатация [98].

Милринон е фосфодиестераза 3 (PDE_3) инхибитор с инотропен ефект, който се прилага интравенозно от 1990г. при конгестивна сърдечна недостатъчност. Медикаментът често е наричан „ инодилататор", поради инотропния ефект върху сърдечния мускул и дилататривния ефект върху съдовете [145]. Милринон повишава нивото на cAMP сърдечния мускул и в съдовите клетки, подобрявайки сърдечната функция както директно, така й намалявайки следнатоварването. Индикациите за използване на медикамента при белодробна хипертония са следните:

- Вентрикулна дисфункция, особено ако е свързана с белодробна венозна хипертония или високо налягане в лявото предсърдие; при тези деца се наблюдава ляво-десен шънт през форамен овале, поради високото налягане в ляво предсърдие; и дясно-ляв шънт през дуктус артериозус, който е типичен за PPHN. В тези случаи, например – асфиксия, Вродена диафрагмална херния, сепсис асоцииран с PPHN, приложението на iNO е контраиндицирано.
- Като допълнителна терапия заедно с iNO, за подпомагане на белодробната вазодилатация.

Липсват контролирани рандомизирани клинични проучвания за приложението на Милринон в неонаталния период. Всички налични данни са на базата на изследвания при животни, малки педиатрични съобщения и докладвани клинични случаи в неонаталния период.

Множество клинични проучвания доказват положителния ефект на Милринон при деца след операции на Вродени сърдечни малформации (вкл. едно рандомизирано проучване PRIMACORP) [108].

Ефектът на медикамента при доносени новородени деца с PPHN е изследван при няколко малки клинични проучвания. Обикновено Милринон се прилага в насищаша доза, последвана от продължителна интравенозна инфузия. Поради възможност за системна вазодилатация и хипотония при някои случаи не

се използва насищаща доза. Всички автори описват положителен ефект при приложение на медикамента, а в някои случаи дори и при iNO – резистентна PPHN.

James et al съобщават за приложение на Милринон при 7 недоносени деца с iNO – резистентна PPHN [117]. Клиничният ефект се отчита чрез две ехокардиографии – едната около 1 час преди началото на венозната инфузия, а втората след приключване на лечението. Резултатите са следните: увеличен ударен обем на двете камери и редукция на дяснокамерното налягане. Тези ехографски данни се съпътстват от клинично стабилизиране на пациентите, редукция на дозата на подаван iNO и понижени кислородни нужди през следващите 72 часа.

Милринон често се използва предоперативно за стабилизиране на състоянието при деца с Вродена диафрагмална херния. Patel наскоро докладва подобрена диастолна функция на дясна камера и оксигенация при 6 новородени деца с диафрагмална херния [179]. Милринон често е медикамент на избор при това заболяване [91], въпреки че липсват рандомизирани проучвания, доказващи неговия ефект. Тридесет процента от децата с Диафрагмална херния в Children's Hospital Neonatal Database (CHND) и 22% от новородените с това заболяване в Pediatrix database са получили Милринон [97]. Медикаментът изглежда като ефективна терапевтична възможност при деца с iNO – резистентна PPHN и/или при съпътстваща сърдечна дисфункция [156].

<u>Белодробни вазодилататори, които действат чрез Ендотелиновия път.</u>

Ендотелин-1 (ET-1) е мощен вазоконстриктор, който се синтезира от съдовите ендотелни клетки и действа върху два вида рецептори: ET_A и ET_B. ET_A играят ключова роля при вазоконстрикцията, докато ET_B опосредстват вазодилатацията, медиирана от ендотелния NO. Селективното блокиране на ET_A рецепторите предизвиква фетална белодробна вазодилатация. ET–1 генната експресия и нива са увеличени в белите дробове и белодробни артериални ендотелни клетки на фетални животински модели на PPHN, докато ET_B протеинът е намален в белодробни артериални ендотелни клетки, изолирани от животни с PPHN, индуцирана с антенатално лигиране на дуктус артериозус [239,245]. Този модел на PPHN се характеризира със значимо ремоделиране на белодробната артерия с гладкомускулна хипертрофия и мускуларизация на малките, дистални белодробни артерии, подобно на промените описани при децата с PPHN.

Хроничната интраутеринна ET_A рецепторна блокада, приложена след лигиране на артериалния канал, намалява белодробното артериално налягане и дисталната мускуларизацията на малките белодробни артерии вътреутробно, намалява хипертрофията на дясната камера и ускорява спадането на белодробното съдово съпротивление при раждане на животни с PPHN. Увеличени плазмени нива на ET-1 се установяват при деца с Вродена диафрагмална херния и PPHN и

могат да се използват като маркер за тежестта на заболяването и неблагоприятна прогноза [125,138].

Бозентан (Bosentan) е ЕТ-1, който действа върху двата вида рецептори - ET_A и ET_B. При животински модели на PPHN е установено, че заболяването се характеризира с увеличена ET_A – медиирана вазоконстрикция и загуба на ET_B – медиирана вазодилатация. Увеличени плазмени нива на ЕТ-1 са документирани при новородени деца с PPHN. Медикаментът е с доказана ефективност при възрастни пациенти с първична белодробна хипертония. В неонаталния период е описано приложението на Bosentan при PPHN основно при клинични случаи и в две малки контролирани рандомизирани проучвания. Позитивен ефект на медикамента е докладван и при новородени с белодробна хипертония и Вродени сърдечни пороци. Mohamed et al [168] в проспективно, контролирано рандомизирано проучване при новородени доказват както позитивен краткосрочен, така и позитивен дългострочен ефект на Bosentan на 6-месечна възраст в сравнение с плацебо. Проучване на Steinhom et al [213] не показва значим ефект при добавяне на медикамента към терапия с iNO. Bosentan е наличен само във формули за перорално приложение, а това ограничава неговото използване при критична PPHN в ранния неонатален период. Въпреки това би могъл да се използва като продължителна терапия при новородени с белодробна хипертония и БПД или Вродена диафрагмална херния. Намира също приложение в центрове, които не разполагат с iNO.

В настоящия момент Bosentan не е одобрен медикамент за лечение на белодробна хипертония в детска възраст, както и при PPHN. Използва се само в строго селектирани програми, при стриктни критерии за включване и обучение на лекарите.

Други ендотелин рецепторни антагонисти включително селективни ЕТ-А блокери не са детайлно проучвани при PPHN.

Комбинирана терапия.

Комбинацията на фармакологични агенти с различен механизъм на действие при PPHN може да предложи предимството на адитивния ефект или да доведе до същия положителен терапевтичен ефект при по–ниска доза на медикамента. Например инхалаторния Епопростенол може да промени отговорът към NO при новородени, тъй като механизмът му на действие е различен и съответно допълващ този на NO. Комбинирането му с iNO може да предпази от „rebound" ефекта, съпътстващ отвикването от iNO.

В описание на клиничен случай на недоносено новородено дете след хирургична корекция на Вродена диафрагмална херния с дяснокамерна недостатъчност и тежка PPHN комбинацията от PGE_1 инфузия и орален Силденафил води до нормализиране на дяснокамерното налягане и функция [218,82].

1.5. Нови таргети в терапията на PPHN.

Разтворими гуанилатциклазни стимулатори и активатори. Таргетният ензим за действието на iNO е ензимът гуанилатциклаза (GC). Резистентност и толерантност към NO може да ограничи продукцията на цикличен гуанозинмонофосфат (cGMP) в белодробните артериални гладко-мускулни клетки и да намали вазодилатацията. Това е причината, довела до създаване на хем – зависими GC – стимулатори и на хем – независими GC – активатори. Riociguat е стимулатор, който от 2013г. е признат от FDA като средство за лечение на хронична тромбоемболична белодробна хипертония при възрастни пациенти, както и при някои форми на белодробна артериална хипертония. Подобен агент – cinaciguat е активатор на GC и е с доказана ефективност като белодробен вазодилататор при животински модели на PPHN, индуцирана чрез лигиране на артериалния канал [56]. Докато ефективността на iNO за увеличаване на cGMP е максимална при 21% O_2 и без наличие на оксидативен стрес, cinaciguat увеличава продукцията на cGMP в артериалните гладко-мускулни клетки при оксидативен стрес при 50% O_2. Поради тази причина се смята, че cinaciguat би бил ефективен при тежка PPHN, лекувана продължително време с хипероксия.

Rho-kinase инхибитори: Съдовата гладко-мускулна контракция се регулира от цитозолните Ca^{2+} нива. PPHN, индуцирана чрез частично лигиране на артериалния канал в животински модели, е съпътствана с повишени нива и активност на Rho-kinase (ROCK) в белодробните артериални ендотелни клетки и води до нарушена ангиогенеза. Доказано е, че при животински модели инхибирането на Rho-kinase (ROCK) води до увеличаване на кръвния ток в лявата белодробна артерия и намаляване на съдовото съпротивление [177]. ROCK инхибитори като fasudil и Y27632 биха могли да имат терапевтичен потенциал при новородени с PPHN.

PPAR γ agonists: Пероксизомният пролифератор - активиран рецептор -γ (PPARγ) и ROCK регулират пролиферацията на гладко-мускулните клетки и допринасят за съдовото ремоделиране при белодробна хипертония. PPARγ е основен регулатор на белодробната артериална гладко-мускулна клетъчна пролиферация и съдовия тонус. PPARγ агонисти предизвикват вазодилатация чрез инхибиране на ROCK и също имат потенциална роля при лечението на PPHN [240].

Антиоксиданти: Оксидативният стрес играе важна роля в патогенезата на белодробната хипертония. Интратрахеалното приложение на рекомбинантна човешка супероксид дисмутаза (rhSOD) индуцира белодробна вазодилатация, подобрява оксигенацията и намалява оксидативния стрес при животински модели на PPHN [144].

Трудния достъп до iNO в развиващите се страни, съчетан с високата цена на медикамента и липсата на ефект при една трета от лекуваните деца, са причини

за търсене на нови терапевтични възможности за PPHN. Голям терапевтичен проблем остават също белодробната хипоплазия и белодробната хипертония, съпътстващи Вродената диафрагмална херния, както и БПД – асоциираната белодробна хипертония при недоносените новородени деца. Всички споменати белодробни вазодилататори все още са в процес на проучване. Провеждането на рандомизирани контролирани проучвания е изключително трудно поради множество причини: етични съображения (даване на плацебо), бърза прогресия на заболяването и клинично влошаване при резистентност към iNO.

2. Приложение на iNO при недоносени деца

2.1. Клинични проучвания

iNO е селективен белодробен вазодилататор с призната ефективност при доносени и почти доносени (near - term) деца с Хипоксична дихателна недостатъчност (ХДН) - нужда от вентилаторно подпомагане и OI>10, и PPHN. В животински модели е установено, че освен като белодробен вазодилататор, медикаментът има и редица други ефекти, а липсата на ендогенен NO води до нарушения в паренхимното и съдовото развитие на белия дроб [195,160,46]. Тези рандомизирани проучвания доказват, че екзогенният NO има позитивен ефект върху съдовото ремоделиране, процесите на възпаление и белодробен оток, белодробната механика и растеж, ангиогенезата [130]. Въпреки това, медикаментът не намалява смъртността и честотата на БПД при новородени < 34 г.с. Множеството клинични проучвания, които се провеждат при недоносени деца най-общо прилагат iNO при три групи новородени [39]:

- В първите три дни от живота, при висок OI; т.н. „rescue" (спасителна) терапия
- Рутинно приложение при интубирани недоносени деца: т.н. „профилактична" терапия
- Късно включване, при повишен риск от БПД; т.н. „БПД превенция" терапия.

Този тип разделяне в групи е полезно когато се сравняват резултатите от проучванията, но трябва да се има предвид, че и други фактори като: гестационна възраст, тегло, време на начало на терапията, доза, продължителност на лечение, метод на вентилация, също оказват влияние върху получените резултати.

На **табл. II.1** са представени най-големите проучвания, провеждани при недоносени деца, които са лекувани с iNO. Прави впечатление наличието на големи разлики по отношение на включващите критерии, времето на начало на терапията, дозата на използвания медикамент и продължителността на провежданото лечение.

Таблица II.1. Големи рандомизирани клинични проучвания на приложения на iNO при недоносени деца.

Автор и дата на публикация	N	Включващи критерии	Начало на терапията	Средно тегло (гр.)	Средна г.с. (седмици)	Начална доза на iNO (ppm)	Продължителност на терапията	Резултати и анализ на подгрупите
Schreiber (2003) [203]	207	< 34 седм. < 2 kg без нужда от вентилация	< 72 часа	975	27.2	10	7 дни	↓смърт/БПД (p=0.03) По-ниски ICH/PVL (p=0.04) + ефект при групата с OI<6.94 (p=0.02)
Van Meurs/ NICHD [229]	420	< 34 седм. 401–1500гр. Нужда от вентилация OI критерии^	<120 часа	838	26.0	5 или 10	В зависимост от отговора	Без разлика смърт/БПД (p=0.52) ↓смърт/БПД в >1000гр. (p=0.03) ↑ICH/PVL в ≤1000гр. (p=0.03)
Field/INNOVO (2005)[80]	126	Не са строго определени	<28 дни	978	27.0.	5 или 10	В зависимост от отговора	Без разлика смърт/ нарушения на 1 год. (p=0.94) ↑Продължителност на вентилация в iNO група (p=0.06) ↑цена при NO група
Hascoet (2005) [104]	145	< 32 г.с. FiO2>40% и aAO2< 0.22+	<48 часа	липсва	25.7	5	В зависимост от отговора	Без разлика по отношение на преживяемост (p=0.94)
Kinsella (2006) [129]	793	<34 г.с., нужда от вентилация	<48 часа	790	25.6.	5	21 дни*	Без разлика смърт/БПД (p=0.24) ↓мозъчни увреждания (0.03) ↓БПД в 1000–1250 гр. (p=0.004)
Ballard (2006) [34]	582	< 1250гр. Нужда от вент. или CPAP++	7-21 дни	760	26.0	20#	24 дни	↑Преживяемост без БПД (P=0.042) ↓подаван O2 (0.006) По-рано изписване (p=0.04)
Mercier/EUNO (2010)[164]	800	24 до<29 г.с. >500гр. Нужда от вент. или CPAP>	<24 часа	857	26.5	5	7-21 дни	Без разлика по отношение преживяемост без БПД (p=0.73)
Yoder/NEWNO [243]	451	<1250гр. <30г.с. Вент. или CPAP#	5-14 дни	737	25.6	20#	24 дни	Без разлика смърт/БПД (p=0.43)

/ICH/PVL – интракраниален кръвоизлив/перивентрикуларна левкомалация/

/ ^OI критерии са >10 на 2 газови анализа 30мин. до 12 часа отстояние, след това >5 последвани от >7.5 30мин. до 24 часа отстояние.

+С изключение на рефракторна хипоксемия, дефинирана като PaO_2 < 50 на FiO_2 1.0

*iNO използван 21 дни или до екстубация

++на CPAP и < 800гр.

#iNO започва с 20 ppm за 48–96 часа, след това се намалява дозата на седмични интервали

>Децата са изключвани, ако са на FiO_2 > 0.5 за запазване на сатурация > 85%

Първото голямо рандомизирано проучване за приложение на iNO при недоносени деца е проведено от Schreiber et al [203]. То е едноцентрово с голям процент от чернокожи деца и стига до заключението, че iNO в доза 10 ppm приложен профилактично при недоносени деца на възраст < 34г.с. и тегло <2 кг. води до по – ниска честота на БПД и/или смърт сравнени с плацебо (49% срещу 64%, p=0.03). В допълнение, изследователите установяват по – ниска честота на тежки вътречерепни кръвоизливи (ICH) или перивентрикуларна левкомалация (PVL) при iNO групата (12% срещу 24%, p=0.04). Изненадващо при субгрупов анализ се установява, че позитивен ефект от iNO се наблюдава само при деца в по – стабилно общо състояние с OI под 6.9. Децата са били разделени на две групи: една група на конвенционална апаратна вентилация и друга група на осцилаторна апаратна вентилация. Субгруповият анализ показва по–добър ефект на медикамента в групата на конвенционална вентилация, но тази разлика е без статистическа значимост (p=0.11).

Следващото проучване, публикувано от NICHD Neonatal Research Network [229], се фокусира върху iNO приложението като спасителна терапия (rescue) при деца с тежка дихателна недостатъчност и висок OI след приложение на сърфактант. Това е мултицентрово проучване, което се провежда в 16 академични центрове и не открива разлика по отношение на честотата на смърт или БПД при лекуваните недоносени новородени деца (80% с iNO срещу 82% в контролната група, p=0.52). Проучването се прекратява по–рано, при междинен анализ на включените 420 от общо 440 планирани деца, тъй като се установява по-висока честота на тежки ICH или PVL в iNO групата. При крайния анализ на всички налични резултати се установява, че разликите в честотата на тежка ICH или PVL не са статистически значими (39% срещу 32%, p=0.11). Субгруповият анализ показва, че има връзка между лечението и теглото при раждане от една страна и изходът от друга (p=0.02). Деца с тегло ≤1000 гр. (n=316) имат по-висока честота на БПД и смърт, когато се лекуват с iNO, както и по– висока честота на тежки ICH или PVL, докато новородени с тегло >1000 гр. (n=104) имат статистически сигнификантно понижение на честотата на БПД или смърт, при лечение с iNO (50% срещу 69%, RR 0.72, 95% CI 0.54–0.96, p=0.03). Тези резултати са в пълен противовес на позитивните резултати, получени при проучването на Schreiber, но това най-вероятно е свързано с различния контингент на лекувани деца. NICHD проучването е по–мащабно, мултицентрово и включва по-незрели, с по–ниски тегла и в по-тежко състояние (по-висок OI) недоносени деца. Процентът на чернокожи деца в NICDH проучване е по-нисък. По-високата честота ICH при деца с тегло <1000 гр. е притеснителна и се обяснява с ефекта на iNO върху времето на кървене и тромбоцитната агрегация [228,182].

Вторичен анализ на данните от NICHD проучването, чрез използване на стъпаловиден логистичен регресионен модел, е проведено с цел анализиране

на факторите, които предполагат развитие на БПД или водят до летален изход. Установява се, че основните рискови фактори са ниско тегло при раждане, мъжки пол, тежко състояние, което се оценява чрез OI, и раждане извън третичен неонатален център. Степента на подобрение на PaO_2 в отговор на лечението с iNO няма пряка връзка с изхода или с развитието на БПД. Това означава, че добрият първоначален отговор към iNO при недоносени деца с тежка дихателна недостатъчност, не е индикация, че лечението с медикамента трябва да бъде продължено.

Във Великобритания се провежда малко, мултицентрово, рандомизирано, контролирано проучване, което трябва да установи, дали приложението на iNO при недоносени деца е едновременно клинично и финансово ефективно [80]. Резултатите, които се анализират, са летален изход преди изписване или увреждания на 1 година коригирана възраст. Липсва статистическа значимост, че iNO има ефект (RR 0.99; 95% CI 0.76–1.29; p=0.94). Финансовите анализи също показват по-висока стойност в групата с iNO: от една страна поради високата цена на медикамента, а от друга поради по-дълъг болничен престой и по-продължителна апаратна вентилация при iNO групата. Изводите от проучването са, че има увеличаване на продължителността на интензивното лечение и съответно разходите при тези пациенти, без това да е свързано с положителен клиничен ефект. Поради тези причини, iNO не може да се препоръча за терапия на недоносени деца с тежка дихателна недостатъчност.

Hascoet et al. [104] докладват приложение на iNO при недоносени деца <32 г.с., рандомизирани или на 5 ppm iNO или плацебо, ако отговарят на критериите за хипоксична дихателна недостатъчност (FiO_2 >40% и артерио-алвеоларно отношение <0.22). Проучването се провежда в 10 центъра в Белгия и Франция, а новородените, които развиват рефрактерна дихателна недостатъчност, получават лечение с iNO според препоръките на Френската лекарствена агенция. Първичният изход, който се изследва, е преживяемост на 28 дневна възраст, без респираторно подпомагане или O_2, без ИВК по-голям от 1-ва степен и без рефрактерна хипоксемия. Включени са 145 деца, които развиват ХДН. Не се отчита подобрение по отношение на първичния изход, въпреки това, рискът за БПД е по-нисък в iNO групата. Не се отчитат разлики по отношение на дългосрочните усложнения.

Едно от най-големите мултицентрови проучвания, свързано с профилактично приложение на ниски дози iNO при всички интубирани недоносени деца <34 г.с. се провежда от Kinsella et al [129]. Не се доказва разлика в честотата на БПД или летален изход; въпреки това, децата, които са лекувани с iNO имат по-ниска честота на мозъчни увреждания, дефинирани като тежки ИВК, вентрикуломегалия или PVL (p=0.03). Ефектът е много различен при различните тегла на новородените. Мозъчните увреждания са значимо по-малко при iNO-групата с тегла

750 до 999 гр. (p=0.006), докато БПД е с по-ниска честота при iNO-групата с тегла 1000–1250 гр. (p=0.001). Потенциалният механизъм, чрез който iNO може да действа като невропротектор не е известен.

Първото проучване от категорията „БПД превенция" е Nitric Oxide (to Prevent) Chronic Lung Disease (NO CLD) проучване. Ballard et al. [34] установяват, че iNO терапията подобрява преживяемостта без БПД на 36 г.с. (43.9% с iNO срещу 36.8% при контролите, p=0.042). Това проучване се базира на напълно различна стратегия, фокусирайки се на БПД превенцията. Стартовата доза е 20 ppm, началото на лечението е между 7 и 21 ден след раждането, а продължителността на лечението е минимум 24 дни. Чрез лечението само на тези деца, които имат нужда от механична вентилация повече от 7 дни след раждането, се таргетира тази група пациенти, която има най-голяма вероятност да развие БПД [152]. Последващи анализи показват, че iNO има най-голям ефект, ако се започне между 7 и 14 ден след раждането. Подобен позитивен ефект не се наблюдава при терапия, която се провежда след 14 ден. Освен това се установява, че ефектът на медикаментът зависи от расата на пациентите (p=0.05).

EUNO проучването е голямо, мултицентрово, рандомизирано, контролирано проучване, което се провежда в 36 неонатални интензивни отделения (NICUs) в 9 страни от Европейския съюз [164]. Целта е да се установи, дали профилактичната, нискодозова iNO терапия, приложена за минимум 7 до 21 дни, подобрява преживяемостта без БПД при деца, които се нуждаят или от Сърфактант или CPAP с FiO_2 минимум 30%. Таргетната група пациенти в това проучване е напълно различна от провежданите до този момент, тъй като новородени с тежка дихателна недостатъчност и FiO_2 нужди по-големи от 50% са специално изключвани. Тези критерии се базират на анализа на проучването на Schreiber, а именно понижение на честотата на БПД или летален изход при групата с OI<6.94. В проучването се включват 800 новородени деца и не се установява разлика по отношение на преживяемост без БПД между лекуваните групи и контролите (65% срещу 66%, p=0.73). Заключението на авторите е, че ниски дози iNO, започнати 24 часа след раждането с продължителност на терапията средно 3 седмици, не води до повишаване на преживяемостта без БПД.

Бизнес–спонсорирано мултицентрово проучване NEWNO [243] е проведено с основна цел да се опровергаят или потвърдят резултатите от проучването на Ballard. Началото на лечението е променено на 5 до 14 ден, вместо 7 до 21 ден, което е базирано на постанализа на Ballard проучването. Започва се с доза от 20 ppm за 72 до 96 часа и iNO се намалява бавно до доза 5 ppm в рамките на 24 дни. В NEWNO са включени 451 недоносени новородени деца, а резултатите показват, че iNO не увеличава честотата на преживяемост без БПД в сравнение с плацебо (35% срещу 32%, p=0.43). Също така не се отчитат съществени разлики по отношение на вторичния изход и наличието на дългосрочни увреждания. Не

става ясно защо има такава разлика по отношение на първичния изход, а именно преживяемост без БПД, между двете проучвания - Ballard и NEWNO. Резултатите от NEWNO все още не са публикувани или включени в мета–анализ.

До момента са публикувани няколко мета–анализа на iNO проучвания, всички с подобни изводи. Cochrane анализ от Finer и Barrington от 2010 е базиран на 14 Рандомизирани контролирани проучвания (RCTs), които са разделени в три категории, базирани на описаните вече включващите критерии [40]. Не се наблюдава важен клиничен ефект в нито една от трите подгрупи. „Спасителната" терапия при недоносените деца в критично състояние не е ефективна и е свързана с не–сигнификантно увеличение от 20% на тежките ICH. Ранното рутинно приложение не намалява мозъчното увреждане и не води до увеличена преживяемост без БПД. Късното приложение на INO не показва съществен позитивен ефект при този мета–анализ, но се изтъква, че все пак са необходими още клинични проучвания.

За да може допълнително да се отдиференцира наличието на субгрупа, при която би могло да има позитивен ефект от приложението на iNO, е осъществен индивидуален пациентски мета-анализ на данните (IPD - анализ) [29]. При този анализ са събрани всички данни за пациентите, които са включени в клинични проучвания. Предимство на метода е, че се създава унифицираност при дефиниране на характеристиките на пациентите, както и при дефиниране на изхода. Специфичната цел на този мета-анализ е да се определи дали ефектът от приложението на iNO е различен в зависимост от пациента или се определя от фактори като гестационна седмица, тегло при раждане, раса, антенатално приложение на стероиди, възраст при рандоминизация, тежест на заболяването, метод на вентилация, iNO доза и продължителност на лечението. IPD анализира данните от 3298 новородени, включени в 12 от общо 14 проучвания. Заключението е, че липсва статистически значим ефект на iNO върху смъртния изход или БПД или тежки неврологични увреждания при образните изследвания. В допълнение, липсва разлика по отношение на ефекта на iNO при различните характеристики на пациентите. Въпреки това, при проучвания, които започват с доза на iNO ≥5 ppm има данни за позитивен ефект (p=0.02). Последното откритие е базирано на добрия ефект, който се наблюдава при проучването на Ballard, което също така има доста разлики в провеждането спрямо останалите проучвания. В заключение резултатите от IPD мета–анализа не подкрепят препоръките за рутинно приложение на iNO при недоносени деца с дихателна недостатъчност.

2.2. iNO приложение при деца с предтерминно преждевременно пукнат околоплоден мехур (PPROM), олигохидрамнион и белодробна хипоплазия.

Новородени деца с данни за PPROM и последващ олигохидрамнион имат сигнификантно повишен риск за развитие на летална белодробна хипоплазия. Според едно отдавнашно проучване новородени с PPROM преди 25 г.с. и тежък олигохидрамнион за повече от 14 дни имат вероятност за настъпване на летален изход над 90% [128]. Белодробната хипоплазия е придружена често от тежка белодробна хипертония, въз основа на което няколко клинични проучвания предполагат подобрение на оксигенацията с iNO. Терапията с iNO не е показала ефективност при недоносени деца с ХДН в проведените рандомизирани клинични проучвания [90,183].

Голямо проспективно мултицентрово рандомизирано контролирано клинично проучване на Van Meurs et al [229] не доказва понижение на смъртността или честотата на БПД при недоносени деца с ХДН, лекувани с iNO. В действителност честотата на тежки ICH и смъртността е била по-висока в групата деца, лекувани с iNO, особено при тези с тегло под 1000гр. Ретроспективен анализ на същото проучване установява, че съществува група недоносени деца, при които се наблюдава положителен ефект от терапията. Това са недоносени деца с PPROM, олигохидрамнион и белодробна хипоплазия, при които се предполага съществуващ дефект на синтезата на NO. Подобни резултати се описват и от други малки съобщения и доклади на клинични случаи на недоносени с PPROM.

Новородени с PPROM, олигохидрамнион и подозирана белодробна хипоплазия са включени в NICHD Preemie iNO проучване, при което е анализиран ефекта на медикамента в тази група деца [58]. При 12 от всички 449 деца се доказва белодробна хипоплазия, свързана с PPROM и олигохидрамнион. Шест от тях получават терапия с iNO и 6 са контролна група. iNO-лекуваната група има средно увеличение на PaO_2 от 39 ±50 mm Hg срещу средно увеличение от 11±15 mm Hg при контролната група. Смъртният изход е 33% срещу 67%, BPD 40% срещу 100%, тежки ICH или PVL 20% срещу 50% в iNO–групата и контролната група, респективно. Нито една от тези промени не е статистически значима, поради малкия брой на включени деца. Въпреки това, тези резултати предполагат, че приложението на iNO в специфична популация от пациенти би могло да доведе до намаляване на честотата на БПД или смъртен изход, без лечението да е съпътствано от повишена честота на тежки ICH и PVL. Белодробната хипертония, която се развива при недоносени новородени с PPROM, олигохидрамнион и белодробна хипоплазия, има същата патофизиология, като тази която се наблюдава при доносени деца. Най–малко още две проучвания при подобна група от пациенти докладват подобрена преживяемост с iNO терапията [205,141]. До момента не е проведено контролирано, рандомизирано проучване, поради ниската честота на това състояние и големия брой на клинични центрове, които се из-

иска да бъдат включени в него. Втората причина, която може би е по-важна, е необходимостта от уеднаквяване на критериите [84].

2.3. Белодробна хипертония (БХ) и хипоксична дихателна недостатъчност (ХДН) при недоносени деца

Съществуването на хемодинамични и хистологични характеристики на ранна белодробна хипертония (БХ) и ХДН при недоносени деца е обект на противоречие. Наскоро Cheng et al [55] използвайки функционална ехокардиография (fECHO) за оценка на хемодинамиката преди приложението на iNO доказва наличието на трикуспидална инсуфициенция и бидирекционален и/или дясно-ляв шънт през отворен артериален канал и форамен овале при недоносени новородени деца с БХ. Хистологично интраацинарните артерии в развиващите се бели дробове на недоносените деца са немускуларизирани или имат частичен мускулен слой. За разлика от доносените деца и недоносените с БПД, където клиничните, хемодинамичните и хистологичните характеристики на белодробната хипертония са напълно изяснени, има ограничени литературни данни за недоносените деца с ХДН и ранна БХ (първите 28 дни от живота, преди развитието на БПД) [188,33].

Оценката за наличие на БХ и ефектът от терапията с iNO при недоносени новородени деца е трудно и доста противоречиво. Ехокардиографията е метод на избор. Използват се индиректни белези като: трикуспидална инсуфициенция и интравентрикуларно септално изместване. Документирането на нисък белодробен кръвен ток (Qp) също е белег на високо белодробно съдово съпротивление (PVR). Desandes et al [67] докладват, че наличието на нисък белодробен кръвен ток от ехокардиограма е с предиктивна стойност за бърз (в рамките на 30 мин.) положителен отговор към терапията с iNO. Dani et al [63] не успяват да докажат подобна констелация и установяват, че по-скоро теглото при раждане, а не ехокардиографски данни за БХ и нисък белодробен кръвен ток, е белег за положителен отговор в рамките на 6 час. Може да се направи извод, че БХ, установена ехокардиографски, е по–скоро предиктор за позитивен ранен отговор (30 мин.) към iNO, а не за продължителен терапевтичен ефект на 6-ти час. Възможно е клиничното подобрение, което се наблюдава при деца с ХДН без БХ да се дължи по–скоро на подобрено отношение вентилация/перфузия.

Доказано е, че недоносени деца с ХДН и/или БХ, лекувани с iNO и получили пълен курс пренатални кортикостероиди имат по–висока преживяемост и по–голяма честота на положителен отговор към терапията, сравнени с недоносени деца без кортикостероидна профилактика. В животински модели с PPHN, получена чрез лигиране на артериалния канал, пренаталният Бетаметазон подобрява оксигенацията, намалява белодробното артериално налягане и увеличава системното артериално налягане. Пренаталният Бетаметазон също подпомага

isoproterenol и prostaglandin E1- медиираната белодробна артериална вазодилация и NO–медиираната вазодилатация на белодробните вени и на коронарните артерии, вероятно чрез увеличаване на разтворимата гуанилат циклаза в съдовите гладко-мускулни клетки [88]. Подобен ефект вероятно се наблюдава и при недоносени деца с ХДН и БХ, лекувани с iNO.

Наличието на PPROM и олигохидрамнион са свързани с развитието на БХ и/или ХДН при недоносените новородени деца. Възможно е PPROM да индуцира транзиторен дефект в синтезата на NO и по този начин да спомага за развитието на БХ и на ХДН. Терапията с iNO преодолява този проблем, но същевременно засяга белодробното узряване. Наскоро American Heart Association и American Thoracic Society в педиатричните БХ протоколи отбеляза [10]: „iNO може да има позитивен ефект при недоносени деца с тежка хипоксемия, дължаща се по–скоро на PPHN–физиология, отколкото на паренхимно белодробно заболяване, особено ако хипоксемията е свързана с PPROM и олигохидрамнион".

Най-голямото рандомизирано клинично проучване за приложение на iNO при недоносени деца с ХДН обхваща 210 новородени с тегло 840 ± 264 g и гестационна възраст 26 ± 2 седмици с OI от 23 ± 17. iNO от 5 ppm увеличава PaO_2 с > 20 mm Hg при 57% от лекуваните децата (сравнени с 17% от тези, получили плацебо). Смъртността в iNO групата (n = 210) е 52% с 39% риск за 3-та или 4-та степен ICH или PVL. Не се докладват смъртността и честотата на мозъчни увреждания при лекуваните недоносени деца, които са имали бърз положителен отговор при лечението. Според други проучвания честотата на тези увреждания при т.нар. „responders" е по-ниска - около 2.8% [229].

При доносени новородени деца интраацинарните артерии са частично или не са мускуларизирани. Интересен е фактът, че недоносени деца, които умират от тежка ХДН, имат напълно мускуларизирани интраацинарни артерии. Тези хистологични характеристики на белодробните артерии са подобни на тези наблюдавани при доносени деца с PPHN или при недоносени с БПД и PPROM. Това задебеляване на гладко-мускулния слой на стената на артериите не показва да е свързано с гестационната или постналталната възраст на детето.

Може да се направи заключението, че ХДН при недоносени новородени деца е свързана с белодробно съдово ремоделиране, подобно на това, което се наблюдава при доносени деца с PPHN. В ерата на съвременната прецизна медицина е от съществено значение да се отдиференцира популацията на недоносените деца с критична ХДН, които биха се подобрили от лечение с iNO [31]. Може да се предполага, че тази група недоносени деца под 34 г.с. би следвало да отговаря на следните критерии [131]:

1. Пълен курс пренатални кортикостероиди
2. pPROM
3. Бърз позитивен ефект (60мин.) със спадане на OI от лечението с iNO

4. Ехокардиографски данни за повишено белодробно съдово съпротивление (нисък Qp и високо артериално белодробно налягане)

2.4. Дългосрочен медицински, белодробен и неврологичен изход.

Всички описани 8 RCTs докладват дългосрочния медицински и неврологичен изход при лекуваните деца. Само Френско/Белгийското проучване и скорошното NEWNO нямат публикации относно развитието на децата след изписване. Само едно едноцентрово проучване докладва подобрено неврологично развитие при групата деца, лекувани с iNO. Mestan et al. [165] докладват нарушено неврологично развитие при 24% от децата, лекувани с iNO на две години коригирана възраст и при 46% от контролната група. (p=0.01). Този ефект персистира и след уеднаквяване по отношение на тегло при раждане, пол, хронична белодробна болест и тежки ICH или PVL. На 5 и 7 години децата от iNO-групата все още имат по–добър изход с по–малко хронични заболявания и технологична зависимост (p=0.05) и по–ниска степен на инвалидност (p=0.05). Само едно изследване докладва подобрен белодробен статус при лекуваната група. В NO-CLD проучването децата, които са лекувани с iNO, получават сигнификантно по–малко бронходилататори, инхалаторни стероиди, системни стероиди, диуретици и O_2 след изписване [107]. Въпреки това, iNO- лекуваната група няма по–ниска честота на хоспитализации и неврологичните нарушения на 2 годишна възраст спрямо плацебо групата. Останалите публикации, описващи медицинския, белодробен и неврологичен изход при лекуваните с iNO оцелели деца, не докладват нито странични ефекти, нито дългосрочен позитивен ефект.

NIH Consensus Development Conference and Committee on Fetus and Newborn, *Eunice Kennedy Shriver* NICHD, National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) и Office of Medical Applications of Research (OMAR) на National Institutes of Health проведоха конференция за 2 дни през 2010 с цел създаване на консенсус [60]. Тази независима група от експерти стигна до извода, че въпреки, че има биологична правдоподобност и резултатите при доносени новородени деца са позитивни, комбинираните данни от 14 рандомизирани, контролирани проучвания при недоносени деца ≤34 г.с. показват съмнителен ефект върху белодробния изход, преживяемост и неврологичното развитие на децата. Те стигат до заключението, че наличните данни не подкрепят „ранното рутинно", „ранното спасително" или „късното спасително" приложение на медикамента. Въпреки това, те потвърждават, че има „редки клинични ситуации", включващи белодробна хипертония или хипоплазия, които са недостатъчно проучени и където iNO може да има положителен ефект. Експертите препоръчват бъдещите проучвания да се опитат да открият пропуските между основните изследвания и клиничните проучвания. В допълнение експертите предупреждават, че подгрупов анализ и постанализ, показващи потенциални ползи при някои подгрупи, служат за

генериране на хипотези за бъдещи проучвания, но също така могат да доведат до фалшиво позитивни резултати.

Според становището на Канадската Педиатрична асоциация, публикувано през 2012, iNO не би следвало да се прилага при недоносени деца като спасителна или рутинна терапия, но би могъл да бъде ефективен при малък брой критично болни деца – с респираторен дистрес синдром, асоцииран с олигохидрамнион [183]. Изненадващо Американската академия по Педиатрия публикува през 2014 становище според което липсват индикации за приложението на медикамента при недоносени новородени деца [139].

Въпреки наличните данни за липса на статистически значим ефект на iNO при недоносени новородени деца и препоръките от Консенсусите, приложението на медикамента при тези деца дори се повишава. Анализ за „off-label" (нерегламентираното) приложение на iNO при недоносени деца 23–29 г.с., базиран на данните на Pediatrix Medical Group Clinical Data Warehouse за периода 2009–2013 показва увеличение от 23%, от 5.03% на 6.19% (p=003) [73]. Приложението на iNO е пропорционално на гестационната възраст; iNO се използва при 13.9% от децата в 23–24 г.с., сравнено с едва 0.6% от децата, родени в 33 г.с. Причините за това приложение не са изяснени, но цената на това лечение е изключително висока, достигаща милиони долари годишно за някои центрове. Друг анализ на приложението на iNO е осъществен от California Perinatal Quality Care Collaborative [102]. Авторите изследват приложението на медикамента при недоносени деца от 22 до 34 г.с. за периода 2005–2013. Средно около 2.6% от новородените получават iNO; прави впечатление, че честотата е най–висока при най–малките гестационни седмици и в по–малки неонатални центрове. В групата от 22 до $24^{+6/7}$ г.с. в малките центрове средната честота на приложение е 10.63% с разлики между болниците от 3.8% до 22.6%. Каква е причината за тази употреба, въпреки данните, че липсва статистическа обоснованост, остава неясно. Някои автори предполагат, че подобрението на оксигенацията след приложението на медикамента, дава надежди на неонатолозите за добър изход. Finer и Evans [84] предлагат всяко неонатологично отделение да създаде свои протоколи, които да бъдат базирани на наличните данни. Протоколите трябва да дават възможност за индивидуална преоценка, но също така трябва да са съобразени с всички натрупани до момента резултати, които показват висок риск и ниска ефективност при недоносени деца<1000 гр. Скорошен анализ от Kinsella et al. [132] се фокусира върху лечението на тежка белодробна хипертония при недоносени деца. Те поставят акцент, че ролята на iNO при спешното лечение на ХДН не е напълно изяснена и също потвърждават, че RCT не е приложимо, поради вече описаните причини. Те предлагат проспективен регистър на новородените с тежка белодробна хипертония и лечение с iNO или други вазодилататори, както и на децата, които не са лекувани, за да може да се определи точната роля на iNO в тази подгрупа.

2.5. NICHD Neonatal Research Network принос

NICHD Neonatal Research Network има съществен принос в изследването на iNO терапията при доносени и недоносени деца. NINOS проучването е първото RCT, което доказва, че терапията с iNO редуцира необходимостта от ECMO при доносени и почти доносени деца с ХДН без да отчита съществени странични ефекти. Планираният постанализ дава допълнителна яснота относно iNO терапията, демонстрирайки, че независимо от наличието на белодробна хипертония, iNO терапията подобрява оксигенацията при новородени с тежка хипоксична дихателна недостатъчност. При пациенти с първоначална диагноза PPHN се наблюдава най–добрия ефект по отношение на първичния изход, въпреки това, ефектът на iNO не се ограничава само до тази подгрупа, тъй като при всички основни диагнози с изключение на Вродена диафрагмална херния се отчита подобрена оксигенация и намаляване на нуждата за ECMO или намаляване на честотата на летален изход. Освен това става ясно, че доза от 80 ppm няма предимство пред доза от 20 ppm, но се повишава риска от токсичност на медикамента. Резултатите от NINOS проучването, включително късното проследяване за неврологични увреждания, са от съществено значение за разрешаване на употребата на медикамента в клиничната практика от FDA.

Резултатите, които показват, че пациенти в начален стадий на заболяването и в по–добро общо състояние имат по–добър клиничен отговор към терапията, генерират хипотезата за Ранното iNO проучване. Ранното iNO проучване доказва, че повече деца, лекувани с iNO в началото на заболяването и при по–леко общо състояние, имат подобрение в оксигенацията и е по–малко вероятно заболяването да прогресира до тежка ХДН. Постанализа на проучването доказва, че новородени, които са лекувани с iNO при OI 15≤20 по–рядко стигат до ECMO или имат летален изход; болничният престой при тях също е по–къс. Проследяването на неврологичното развитие при доносени и почти доносени деца, включени в iNO RCTs (проучвания) показва, че оцелелите деца от ХДН имат по–висок риск за развитие на усложнения, въпреки съвременните спасителни терапии.

Въпреки биологичната правдоподобност и положителните резултати при животински модели, рандомизираните клинични проучвания, които изследват ефикасността на iNO за превенция на БПД при недоносени новородени деца, дават разнопосочни резултати. Мета-анализите на проучванията и индивидуалните пациентски мета-анализи не откриват важни клинични ползи за понижение на риска от БПД, неврологичните увреждания или смъртността при тези групи пациенти. Network Preemie iNO проучване се фокусира върху „rescue" терапията с iNO при критично болни недоносени новородени и ясно доказва липсата на ефективност при тези пациенти. NIH Consensus Development Conference, както и становищата на Fetus and Newborn Committees на Канадската Педиатрична Общ-

ност и Американската Академия по Педиатрия наблягат на липсата на ефект на iNO при недоносени новородени деца. Consensus Development Conference потвърждава, че медикаментът би могъл да бъде ефективен при критично болни новородени с pPROM, олигохидрамнион и суспектна белодробна хипоплазия. Въпреки липсата на статистически значими данни за позитивен ефект много Неонатални интензивни отделения (NICUs) продължават да използват „rescue" iNO терапия при недоносени новородени с хипоксична дихателна недостатъчност. Отговорът на въпроса дали терапията с iNO може да бъде ефективна при определена група новородени с белодробна хипоплазия и белодробна хипертония изисква нови контролирани рандомизирани проучвания.

Institutes of Health (NIH) чрез консенсус утвърждава, че наличните данни не подкрепят приложението на iNO при новородени деца под 34 г.с. American Academy of Pediatrics (AAP) се обявява строго срещу рутинното, както и „спасяващо" приложение на медикамента при недоносени деца. И двете институции акцентират на съмнителната безопасност на медикамента при екстремно недоносени деца. Тази кохорта от новородени деца има по-висок риск от летален изход и интравентрикуларен кръвоизлив при лечение на ХДН с iNO. Въпреки тези препоръки, нерегламентираното приложение (off-label) на медикамента в тази група пациенти продължава да нараства, често като „терапия на отчаянието" при екстремно хипоксично недоносено дете на максимално вентилаторно подпомагане.

3. Бронхопулмонална дисплазия

3.1. Патогенеза

Бронхопулмоналната дисплазия (БПД) е заболяване на дихателната система, което се развива при недоносени новородени деца и често води до хронични дихателни проблеми. Въпреки че, знанията за патогенезата на БПД в последните години са значително увеличени, не всички механизми на патогенезата на заболяването са изяснени. Това обяснява защо някои теоретично ефективни терапевтични подходи всъщност имат минимален или дори негативен клиничен ефект. Водещи са следните патогенетични фактори [3,6,127]:

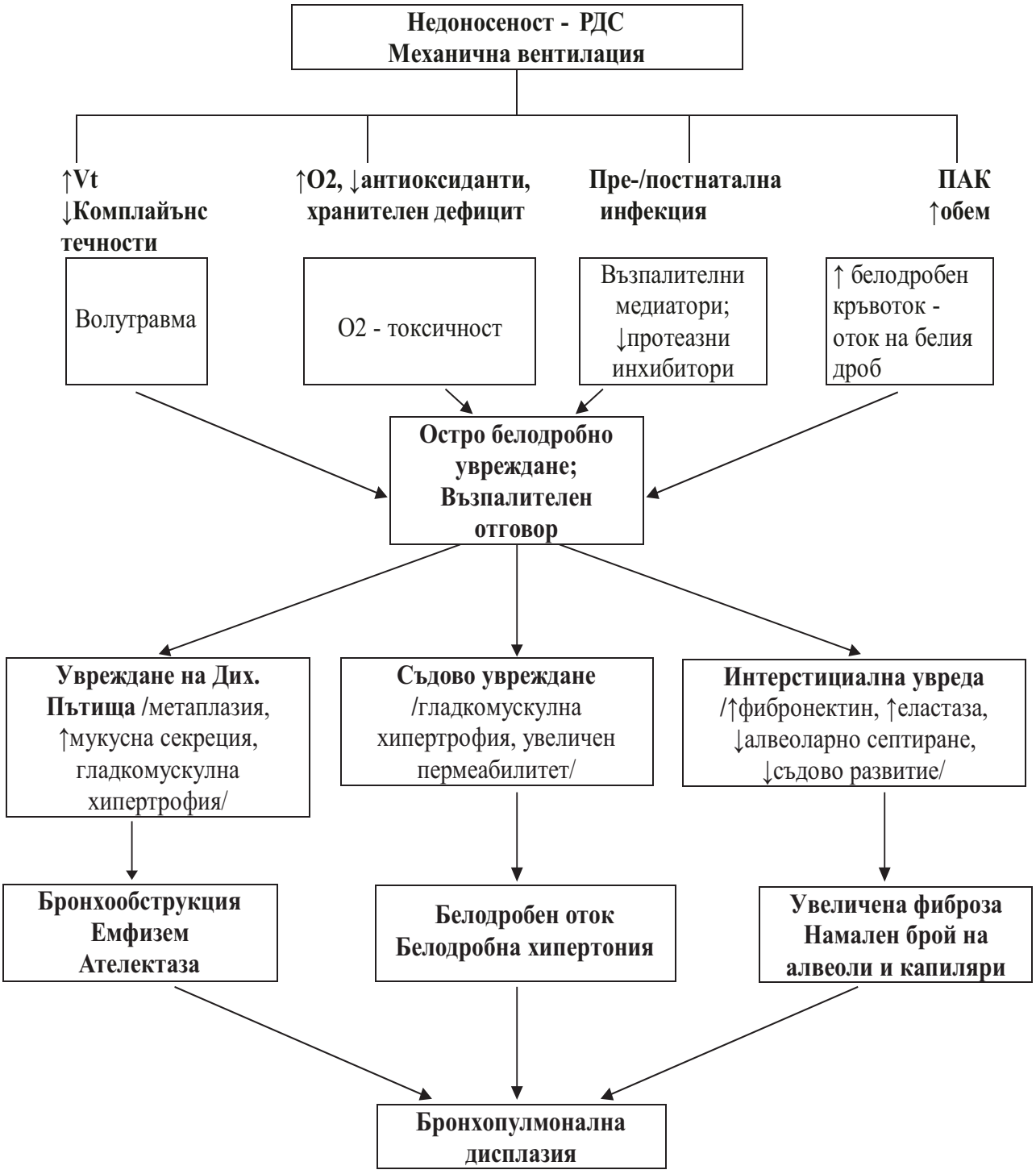
1. Незрялост и респираторен дистрес синдром (РДС).

2. Волутравма или ателектотравма при апаратна вентилация (АВ).

3. Реотравма: увреждане при обдишване с висок поток.

4. Биотравма: O_2–токсичност (оксидативен стрес), възпалителни медиатори, инфекциозни причинители.

Оригиналната концепция за БПД поставя в основата на патогенезата незавършеното развитие на белия дроб [59]. Така екстремно незрелия бял дроб на дете, родено в този период, може лесно да бъде увреден от необходимите за осигуряване на живота терапевтични интервенции (**Фиг. II.2.**).



Фиг.II.2. Патогенеза на БПД (Fig. 5, from Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. In: Laurent G, Shapiro S, eds. Encyclopedia of respiratory medicine. Oxford: Elsevier; 2006:303.). РДС, респираторен дистрес синдром; Vt, дихателен обем; ПАК, персистиращ артериален канал.

Обсъждат се и редица други патогенетични фактори като:

- **Пренатално възпаление и инфекции**: Децата на майки с PPROM и хориоамнионит показват акцелерирана белодробна зрялост с по-лека степен и честота на ХМБ, но по-висока честота на БПД. Скорошно ретроспективно проучване, при което се оценява дали хориоамнионита

повлиява честотата на БПД, доказва че перинаталната инфекция допринася в значителна степен за повишена честота на БПД и перинатален смъртен изход (OR 5.18; 95% CI 4.39–6.11] [166]. Значителна роля също оказва и интраутеринната хипотрофия [3]. Установено е, че недоносени деца с интраутеринна ретардация имат повече от два пъти по-висок риск за развитие на БПД, сравнени с деца с адекватно тегло за гестационната седмица (OR 2.73; 95% CI 2.11–3.55) [76]. Нещо повече, недостатъчното хранене през първите дни от живота също се свързва с повишен риск за развитие на хронично белодробно заболяване [185]. Генетични фактори също биха могли да имат отношение към развитието на заболяването. В проучване, провеждано при близнаци [45] се установява по-висока честота на БПД при монозиготни близнаци. Доказва се, че генетичните фактори имат в 53% значение за развитие на БПД. Нещо повече, докладва се, че генът *SPOCK2* може да е възможен кандидат, отговорен за развитието на БПД, тъй като неговата белодробна експресия е свързана с алвеоларизацията [99]. Определянето на ролята на генетичните фактори изисква провеждане на още клинични проучвания. Голямо геномно-свързано изследване, което обхваща повече от 1700 новородени, не успява да докаже наличието на геномни локуси или пътища, които биха могли да обяснят наличието на наследственост при това заболяване. [234].

- **Задръжка или претоварване с течности, ПАК**. При деца с патологична „задръжка" на течности се развива интерстициален белодробен оток, понижава се белодробния къмплайанс, вследствие на което се стига до прогресивно увеличаване на вентилаторните потребности, съответно на риска за БПД.
- **Хранителен дефицит**: Вит. А стимулира вторичното алвеоларно септиране, поради което се прилага през първите седмици като протективен фактор за БПД [21]. Дефицитът на селен, който е компонент на антиоксидантния ензим глутатионпероксидаза, също би могъл да бъде рисков фактор.
- **Генетична предиспозиция** към абнормна хиперреактивност на дихателните пътища: по-голяма честота на БПД се установява в семейства, в които се среща бронхиална астма, алергични заболявания.
- **Ранна надбъбречна инсуфициенция**: Деца с по-ниски кортизолови нива са предразположени към ПАК, съответно БПД. Правено е проучване с ранен курс с ниски дози кортизол от първата седмица на живота, но то показва подобрение на преживяемостта без БПД само при групата с хориоамнионит [1,6].

- **Роля на хемотрансфузиите (ХТ)**: Белият дроб може да бъде подложен на повишен риск от оксидативно увреждане след ХТ, поради по-лесното отдаване на кислород към тъканите от HbA (преобладаващ в дарителските еритроцити) в сравнение с HbF. От друга страна най-болните деца, при които рискът от БПД е по-висок, по-често имат нужда от ХТ [1].

Появата на „новата" форма на БПД налага редица промени в концепцията за патогенезата на заболяването. В литературата започва да се говори за т.н. „проблемни" ELBW. Между 80-90% от тези деца имат пренатална експозиция на системни КСД (инхибиращи вторичното алвеоларно септиране), а между 50-70% имат данни за пренатален възпалителен процес. Тази група новородени няма „нормални, за съответната гестационна седмица" бели дробове още при раждането. Логичното заключение е, че при тях пренаталната експозиция на различни рискови фактори, променя отговора **увреждане/възстановяване** в посока развитие на БПД [247].

Съвременните знания за патогенезата на заболяването довеждат до разбирането, че БПД е хронично белодробно заболяване, което започва още вътреутробно и продължава години след раждането. При деца на майки с хориоамнионит или прееклампсия (интраутеринна хипотрофия) „новата" БПД се среща много по-често и най-вероятно започва още преди раждането. Наложените промени в концепцията за патогенезата на БПД логично довежда и до стадиране на заболяването, спрямо времето от раждането на детето (**Табл. II.2**).

Таблица II.2. Стадии на заболяването при умерена и тежка БПД.

Ранна увреда	Остра БПД	Хронична БПД	Обратно развитие на БПД
23-28 г.с.	28-36 г.с.	36 г.с. до месеци	?-години

БПД, бронхопулмонална дисплазия; г.с., гестационни седмици [6].

Промените по отношение на видовете, патогенезата и стадирането на заболяването са съпътствани и от основни промени по отношение на терапевтичното поведение спрямо БПД. Съвсем естествено днес усилията на неонатолозите са насочени преди всичко към превенцията на заболяването [113].

3.2. Превенция на БПД.

- Пренатални интервенции:

1. Превенция на преждевременното раждане.

Откриване на рисковите групи бременни жени и създаване на програми за стриктното им проследяване. Антибиотично лечение се прилага при данни за инфекция на бъдещата майка и при PPROM.

2. Превенция на РДС – пренатални кортикостероиди.

Лечение проведено между 1 и 7 дни преди раждането намалява честотата на РДС, но според редици проучвания честотата на БПД дори нараства. Това се дължи на инхибирането на алвеоларизацията и васкуларизация, дължащо се на повишена експресия на съдов ендотелен растежен фактор (VEGF), след приложение на кортикостероиди. Най–рискова група недоносени деца за развитие на БПД са децата на майки с хориоамнионит, при които е проведена пренатална профилактика за РДС. Тези съвременни данни налагат промени в протоколите за пренатални КСД – не се провежда повече от един курс на лечение.

- Постнатални интервенции:

1. Сърфактант терапия.

Всички съвременни проучвания показват, че сърфактант терапията намалява смъртността от РДС, но не повлиява честотата на БПД, поради оцеляване на все по–незрели деца. Скорошен системен анализ и мета-анализ [193,61] на проучванията, които сравняват неинвазивното и инвазивното приложение на сърфактант показва, че неинвазивното приложение на медикамента чрез тънък ендотрахеален катетър при спонтанно дишащи пациенти е значително по-ефективно за понижаване на риска от БПД, летален изход или БПД, неуспеха от неинвазивната апаратна вентилация, в сравнение с новородени, които получават сърфактант през ендотрахеалната тръба.

2. Апаратна вентилация, O_2-терапия.

Вентилаторни стратегии за намаляване на честотата на БПД с доказана ефективност са:

- Да се прилага неинвазивна апаратна вентилация.
- Да се използва „вентилация по обем".
- Да се използва тригерирана от пациента вентилация (синхронизирани режими).
- Да се поддържа сатурация (SpO_2) 91-94% при пулсоксиметрия, пермисивна хиперкарбия ($PaCO_2$ 55-65mmHg).

3. Екзогенни антиоксиданти.

В световен мащаб се провеждат редица проучвания с антиоксиданти: човешка рекомбинантна супероксид дисмутаза (rhSOD), N–ацетилцистеин, Алопуринол, Дефероксамин. За съжаление до този момент повечето показват неудовлетворителни резултати по отношение на превенция на заболяването.

2. Инхалаторен азотен окис (iNO).

Според Ballard et al [34] iNO: **1.** Намалява честотата на възникване на „новата" форма на BPD; процентът на децата без BPD в 36 г.с. се увеличава от 37% на 44%; **2.** При децата, включени между 7-ми и 14-ти ден след раждането честотата на

БПД намалява от 49% на 27%. Редица последващи проучвания не доказват този позитивен ефект, като при най-критично болните ELBW новородени медикаментът не подобрява съществено преживяемостта или превенцията на БПД.

5. Рестрикция на течности и затваряне на ПАК

6. Хранене.

Редица проучвания показват положителен ефект при доставяне на необходимото количество полиненаситени мастни киселини (PUFA) и инозитол, който е прекурсор за синтеза на сърфактант. Въпреки, че приложението на вит. А в доза 5000 Е i.m. 3 х седм. през първите 28 дни след раждането показва положителен ефект за превенцията на БПД, медикаментът не се използва рутинно в неонатологичната практика.

7. Постнатални системни КСД.

Според Grier и Halliday [95] на всеки 100 деца, които получат ранни КСД (първите 15 дни след раждането) ще има превенция на БПД при 10 деца, но при 6 ще има кървене от ГИТ, 12 ще бъдат с детска церебрална парализа (ДЦП), а 14 ще имат нарушено нервнопсихическо развитие (НПР). Поради тези резултати ранното приложение на КСД за превенция на БПД не се препоръчва. Късното приложение (след 15ти ден) все още е обект на редица клинични проучвания. В USA КСД се прилагат само в контролирани рандомизирани проучвания и след получаване на информирано съгласие от родителите.

8. a1-Proteinase inhibitor и Recombinant human clara cell 10-KDA protein (CC10).

Не е ясна дозата, която може да доведе до превенция на БПД.

9. Метилксантини. Кафеин.

Редица проучвания показват, че приложение на Кафеин цитрат от 24 час след раждането в насищаща доза 20 мг/кг/д и поддържаща 5 мг/кг/д намалява честотата на БПД. Проучването Caffeine for Apnea of Prematurity показва, че приложението на медикамента води до значимо понижение на БПД честотата и намаление на неврологичните увреждания на 18 месечна възраст.[201,202]. Множество клинични проучвания доказват положителния ефект на кафеин за превенцията на БПД. Приложение, което започва през първите два дни от живота изглежда има по-добър ефект за превенция на БПД, отколкото по-късното приложение (OR 0.69; 95% CI 0.58–0.82; $p < 0.001$), въпреки че, носи повишен риск за развитие на некротизиращ ентероколит (OR 1.41; 95% CI 1.04–1.91; $p = 0.027$) [69,216,155]. Точният механизъм на действие е неясен, но се предполага, че противовъзпалителните качества на кафеин биха могли да играят роля, въздействайки върху патогенетичните механизми за развитие на БПД [237]. Не може да се изключи обаче и фактът, че положителният ефект може да се дължи на понижената нужда от апаратна вентилация при намаляване на честотата на апнеите.

10. Клетъчна терапия.

Съществуват научни доказателства, че нарушения при стволови и прогениторни клетки могат да опосредстват развитието на БПД. [167]. Базирано на това знание е предположението, че екзогенни стволови и прогениторни клетки биха могли да протектират и дори регенерират вече увреден бял дроб.

При голям брой проучвания при животни с модели на БПД се използват мезенхимни стволови или прогениторни клетки, които живеят в белите дробове (MSCs) [211,153]. Въпреки че, точната роля на MSCs при функционирането на органите не е напълно изяснена, голямо количество научни данни предполага, че те са важен компонент на паренхимната прогениторна клетъчна ниша и участват в хомеостазата и възстановителните процеси след увреждане [211]. Най-често се използват мезенхимни стволови клетки, получени от костен мозък или пъпна връв. Наличните проучвания докладват позитивен ефект върху алвеоларната и съдова морфология, белодробната функция, възпалението и изхода от заболяването. [153]. Някои изследвания докладват включване на клетките в белодробния паренхим, но най-вероятно терапевтичният ефект се дължи на паракринно модулиране на възпалението, фиброзата и ангиогенезата. Позитивни резултати с увеличен брой съдове, намаляване на белодробното артериално налягане и увеличена плътност на алвеоларната стена се наблюдават, когато MSCs, получени от костен мозък на здрави, възрастни гризачи се приложат интравенозно [223] или интратрахеално [30]. Подобни експериментални резултати поставят началото на изследването на тази терапия при хора [226]. Резултатите от приложението на MSC при недоносени деца са обещаващи. Chang et al. изследват безопастността и ефикасността при интратрахеално приложение на човешки MSCs, получени от пъпната връв, при недоносени деца със средна гестационна възраст от 25.3 ± 0.9 седмици, които имат повишен риск за развитие на БПД [54]. Ниските, както и високите дози на клетките, се толерират добре от пациентите, а концентрацията на про-инфламаторните цитокини в трахеалните аспирати значително намалява след 7 дни. Дихателните показатели, измерени три седмици след приложението на клетките, са значително подобрени в сравнение с контролите [54]. Има и други проучвания, които се провеждат в момента или вече са приключили, но резултатите все още не са публикувани. Въпреки това, предварителният доклад на първото от тях [186] предполага, че MSCs се толерират добре и не се описват летален изход или кардиореспираторни проблеми веднага след терапията. Трябва да се отбележи, че пациент е починал 4 месеца по-късно в резултат на белодробна хипертония и хипоплазия [52]. Всички тези резултати ясно показват, че клетъчната терапия би могла да бъде атрактивна алтернатива на конвенционалната терапия в бъдеще. Въпреки това са необходими още проучвания, които да установят ролята на MSCs в патогенезата и лечението на БПД.

3.3. Комбинирано приложение на витамин А и iNO за превенция на БПД

От всички проведени изследвания, свързани с превенция на БПД при недоносени новородени деца, прави впечатление проучването на Monika M. Gadhia et al [169], което изследва ефекта на ранното приложение на iNO заедно с вит. А и честотата на намаление на БПД при тази комбинация.

Обхванати са 793 недоносени новородени деца с тегло 500–1250гр., рандомизирани (след разделяне на групи, спрямо теглото) да получават или плацебо или iNO (5 ppm) за 21 дни или до екстубация (500–749гр, 750–999гр, или 1000–1250g). Сравнени са данните между четири групи пациенти: 1. Само iNO; 2. iNO плюс витамин А суплементация; 3. Плацебо газ без витамин А суплементация; 4. Плацебо газ с витамин А суплементация. 398 новородени получават iNO, а от тях 118 (30%) получават витамин А, според включващия център. Първичният изход, който се сравнява, е летален изход или БПД на възраст 36 гестационни седмици. Децата, които получават комбинация от iNO+витамин А в групата с тегло между 750–999гр. имат по-ниска честота на БПД сравнени с тези, които получават само iNO (p=0.01). Тази група също показва намаление на честотата на комбинирания изход БПД+летален изход сравнена с групата, която получава само iNO (p=0.01). Витамин А не променя риска от БПД в плацебо групата, но витамин А се използва по-малко в цялото проучване (229 от 793 пациенти, или 29%). Комбинираната терапия подобрява Bayley резултатите на една година в сравнение с децата, лекувани само с iNO в групата с тегло 500–749гр. Проучването за комбинираното приложение на двата медикамента се базира на следните научни факти:

- iNO подобрява газообмена при недоносени новородени деца с респираторен дистрес синдром и персистираща белодробна хипертония.
- По време на феталното развитие витамин А играе важна роля при клетъчната диференциация и синтеза на сърфактант в белия дроб [50]. Недоносените новородени деца имат дефицит на витамин А, поради загуба на доставка от майчината циркулация и недостатъчен прием в неонаталния период [158,17]. Мултицентрово рандомизирано контролирано проучване от 1999 показва [225], че витамин А намалява честотата на БПД при екстремно недоносени новородени деца, а мета-анализ на осем рандомизирани проучвания при недоносени деца доказва, че витамин А е свързан със значително намаление на честотата на летален изход или БПД и кислородна необходимост на възраст 36 гестационни седмици [64]. Въпреки тези научни резултати, витамин А не се прилага широко в USA [20,123], вероятно поради все пак не толкова отчетлив ефект, парентералното приложение на медикамента и липсата на доказан ефект върху дългосрочните увреждания [22].

- iNO и витамин А имат потенциално различни механизми на действие за превенция на БПД при недоносени пациенти. Това е причина авторите на проучването да се опитват да докажат, че комбинацията от медикаменти е по-ефективна от монотерапията.

При дългосрочното проследяване на едногодишна възраст по Bayley скалата за неврологично развитие всички деца [44], които са включени в проучването за комбинирана терапия с iNO и витамин А, имат по-добри резултати. Най-отчетлив е ефектът при пациентите с тегла от 500 до 749гр., за съжаление те са най-малката част от всички включени в проучването пациенти. Изследователите не докладват разлики между групите по отношение на честотата на вътречерепните кръвоизливи. Въпреки факта, че iNO и витамин А имат важна роля за развитието на мозъка, до този момент липсват проучвания, които да изследват ефекта на двата медикамента върху дългосрочното неврологично развитие. В проучване на Mestan et al [165], което проследява дългосрочно неврологичното развитие на недоносени деца, които са получили „ранна" терапия с iNO, се установява значително подобрение по Bayley скалата на двугодишна възраст, в сравнение с деца, получили плацебо. Най-вероятно екстрапулмоналните ефекти на iNO имат значителна роля: неговите противовъзпалителни качества или въздействието му върху узряването на невроните допринасят за подобреното неврологично развитие. Точните механизми на това въздействие остават все още неясни. При дългосрочно проследяване на деца, които са с тегло <1000гр. и които са получили витамин А след раждане, не се установяват предимства по отношение на неврологичното развитие на възраст между 18 и 22 месеца.

Заключението на описаното проучване е, че ранната терапия с инхалаторен азотен окис в комбинация с витамин А суплементация потенциално понижава риска за развитие на БПД при недоносени новородени деца с тегла между 750 и 999гр. в по-голяма степен, отколкото самостоятелната терапия с iNO. Комбинираната терапия би могла също да доведе до по-съществено подобрение на неврологичното развитие на една година, отколкото самостоятелната терапия с iNO. Авторите предполагат, че двата медикамента действат чрез допълващи се пътища и така подобряват самостоятелния си ефект. Необходими са бъдещи проучвания, които да изследват тази комбинирана терапия в големи групи недоносени деца с таргетни тегла <750гр. и >1000гр.

3.4. Дългосрочни усложнения на БПД

Опитите на неонатолозите да намалят честотата на възникване на БПД не е самоцелна. Заболяването е не само тежко протичащо в най-ранна детска възраст, но води и до сериозни дългосрочни проблеми и заболявания. Най-важните от тях са следните:

- **Рехоспитализация**

БПД е рисков фактор за рехоспитализация. Lamarche-Vadel et al [149] изследват честотата на рехоспитализация при 376 пациента с екстремно ниско тегло през първите девет месеца след изписване и установяват, че 47.3% са рехоспитализирани поне веднъж и в 55% от случаите се касае за дихателни проблеми. Тази честота е по-висока за децата с БПД (OR 2.2; 95% CI 1.3–3.7).

Ralser et al. проучват честотата на рехоспитализация при 377 деца, родени преди 32 гестационна седмица и установяват, че 151 от тях (40.1%) през първата година и 93 от тях (24.7%) през втората година са рехоспитализирани [190]. Greenough et al. провеждат проучване при 235 новородени със средна гестационна възраст 27 седмици [94]. Те доказват, че въпреки рутинното приложение на антенатални кортикостероиди и постнатален сърфактант, пациентите с БПД, особено тези, които получават O2-терапия в домашни условия, имат по-висока честота на рехоспитализация след изписване от неонаталното отделение.

- Риск от инфекции на дихателната система и астма

При недоносени деца с БПД рискът за развитие на дихателни инфекции е по-висок в сравнение с недоносени новородени без БПД, които от своя страна имат по-висок риск в сравнение с доносени деца [89]. Проучване на Groothuis et al [96] изследва заболеваемостта от респираторно синцитиален вирус (RSV) по време на епидемия при деца с БПД. RSV инфекция се доказва при 59% от децата с доказана БПД, като 69% от тях имат нужда от хоспитализация за повече от 7 дни при средно 2/3 от случаите. За сравнение, честотата на хоспитализация при деца без белодробно заболяване е 1 на 50 до 1 на 500 и продължителността на болничния престой е между четири и седем дни.

По отношение на астма и астма-подобните симптоми се докладва, че деца, родени с екстремно ниско тегло, на 11 годишна възраст страдат от астма в 25% от случаите и имат патологични белодробни показатели при спирометрия в повече от 50% от случаите [72]. Трябва да се отбележи, че въпреки подобните клинични симптоми, алергичната астма и астма, последваща БПД са различни. Обструкцията на дихателните пътища се повлиява само частично от бета$_2$-агонисти, отговорът към инхалаторни кортикостероиди е много слаб, а острите екзацербации на заболяването са по-рядко, тъй като пациентите с БПД имат фиксирано стеснение на дихателните пътища [38,100,187].

Децата с БПД имат ограничена физическа активност, поради патологичната бронхиална функция. Karila et al. докладват, че децата с БПД, изследвани на 7-14 години, имат нарушена дихателна механика по време на физическо натоварване, с по-голямо използване на резервните обеми ($p < 0.01$) и ниски максимални дихателни обеми ($p < 0.01$) [124]. Нещо повече, промените във вентилацията ($p < 0.0001$) и дихателният обем ($p = 0.003$) по време на физическо натоварване са по-малки в групата с БПД, в сравнение с контролната група.

- **Белодробна артериална хипертония**.

Белодробните съдови промени, които придружават БПД, могат да доведат до белодробна артериална хипертония. В скорошен мета-анализ, който изследва всички проучвания, касаещи проблема и публикувани в периода януари 2000г. до декември 2015г. се съобщава, че това усложнение на БПД се наблюдава в 17% от случаите, независимо от тежестта на основното заболяване (95% CI 12–21). Въпреки това, изглежда, че се среща по-често при умерената и тежка форма на БПД (24%; 95% CI 17–30) [25]. Използването на азотен окис при тези пациенти е обект на множество проучвания. В момента се прилага при недоносени деца с PPROM, олигохидрамнион и белодробна хипоплазия, тъй като при тази група пациенти са установени ниски нива на нитрити/нитрати в дихателните пътища, а това би могло да е признак на понижена продукция на азотен окис, играеща важна роля в патогенезата на хипоксичната дихателна недостатъчност и БПД [142,14].

Терапията на PPHN със селективния белодробен вазодилататор iNO е с доказано най-висока ефективност, довеждаща до бърза хемодинамична стабилизация при новородени деца ≥34 г.с Въпреки, че iNO се прилага рутинно повече от 20 години при PPHN, съществуват все още редица въпроси относно времето на започване на лечението, дозата и продължителността на терапията при доносени новородени деца. Огромният брой проведени проучвания и метаанализи до момента не изяснява ролята на медикамента в групата на недоносените деца. Противоречивите данни и липсата на консенсус по отношение на индикациите за приложение, дозата, времето и контингента недоносени деца, които е най-вероятно да се повлияят от терапията, са предпоставка за провеждане на настоящето клинично проучване.

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ:

Изследване ефекта от приложението на инхалаторен азотен окис при новородени с различна гестационна възраст с оглед изработване на адекватни модели за провеждане на терапия в неонаталния период.

За постигането на тази цел си поставихме следните

ЗАДАЧИ:

I група ≥ 34 г.с.

1. Да се проучат факторите, свързани с бременността, акушерското поведение и ранния неонатален период, които са свързани с развитието на Персистираща белодробна хипертония на новороденото

2. Да се анализира терапевтичния ефект на iNO чрез използване на обективния критерии за тежест на заболяването: OI

3. Да се анализират настъпилите странични ефекти по време на провежданата терапия

4. Да се направи сравнение на лечението с iNO и конвенционалната терапия на Персистираща белодробна хипертония по отношение на:

- Летален изход
- Хронични усложнения: Неврологични увреждания (промени в ТФЕ) и БПД
- Продължителност на болничен престой

5. Да се изработи протокол за провеждане на терапия на PPHN с iNO в неонаталния период.

II група ≤ 30 г.с.

1. Да се проучат факторите, свързани с бременността, реанимацията в родилна зала и ранния неонатален период, които са свързани с развитието на Бронхопулмонална дисплазия

2. Да се анализира терапевтичния ефект на iNO при недоносени деца с Белодробна хипертония и повишен риск за развитие на Бронхопулмонална дисплазия

3. Да се изработи протокол за провеждане на терапия с iNO при недоносени деца под 30 г.с.

IV. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Изследваният клиничен контингент обхваща новородените деца в СБАЛАГ „Майчин дом" – ЕАД, гр. София, лекувани в Интензивно отделение на Клиника по неонатология, за периода 01.04.2015г.-31.12.2018г., отговарящи на следните критерии:

Критерии за включване:

I група ≥ 34 г.с.

- Новородени деца с тегло над 2000гр. и 34 г.с.
- Дихателна недостатъчност, Апаратна вентилация, OI >20, Диагноза: РДС, МАС, Вродена пневмония, Белодробна хипоплазия, Първична (Идиопатична) PPHN, Перинатална асфиксия.
- Ехокардиография-данни за интрапулмонален дясно-ляв шънт, нарушение вентилация/ перфузия, данни за PPHN
- Нормален статус на кръвосъсирване

II група ≤ 30 г.с.

- Недоносени деца с тегло под 1300гр. и 30 г.с.
- Апаратна вентилация (вкл. неинвазивна) след приложение на Сърфактант повече от 7 дни
- Ехокардиография
- Нормален статус на кръвосъсирване

Критерии за изключване при двете групи:

- Тежки малформации
- Вродени сърдечни малформации с дясно-ляв шънт или сърдечна недостатъчност ; ПАК
- Нарушения в коагулационния статус
- ИВК IV степен двустранно

Обхванати са общо **64 новородени,** които са разпределени в **2 групи,** в зависимост от гестационната седмица, клиничната картина и формата на лечение, която се прилага:

I група новородени над 34 г.с. в критично състояние:

Първа група А – 12 деца: Новородени деца с PPHN и гестационна възраст над 34 г.с., в критично състояние и опасност за живота, въпреки оптимална апаратна вентилация. Терапията с iNO се започва след ехокардиографско изследване за изключване на цианотичен сърдечен порок и за поставяне на диагноза PPHN.

Първа група В – 20 деца (контролна): Проучване на новородени деца с PPHN, гестационна възраст над 34 г.с., в критично състояние, при които се прилага само оптимална апаратна вентилация.

II група новородени под 30 г.с. в критично състояние:

Втора група А – 11 деца: Новородени деца с гестационна възраст под 30 г.с. (новородени с екстремно ниско тегло ELBW), при които апаратната вентилация след приложение на екзогенен сърфактант Куросърф продължава повече от една седмица.

Втора група В – 21 деца (контролна): Проучване на ELBW новородени, които провеждат само оптимална апаратна вентилация след приложение на Сърфактант.

2. ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ МЕТОДИ

Проучването е проспективно и започва след подписване на информирано съгласие от родителите. За всеки пациент, лекуван с iNO, е попълван индивидуален протокол, изработен специално за целите на проучването – приложение 1. iNO се прилага чрез апарат NOxBOXi, който е свързан към респиратора. В първа А група се стартира с доза 20ppm, която се понижава спрямо клиничното състояние и OI. Във втора А група се стартира с доза 20ppm и се следва оригиналната схема на приложение на Ballard [34].

2.1. Клинични и лабораторни методи

А. Оценка на **ПЕРИНАТАЛНИТЕ ДАННИ** се прави на базата на анамнезата, История на раждането на майката и новороденото, клиничен преглед на новороденото:

- **Заболявания на майката** през бременността. Критериите за поставяне на диагноза майчина инфекция са следните: 1. Повишен CRP≥5mg% преди раждане; 2. Левкоцитоза преди раждане – левкоцити над 15 хил.; 3. Положителни урокултури и влагалищни секрети преди раждане; 4. Фебрилитет по време на раждане и/или данни за хориоамнионит. Критериите за поставяне на диагноза ранна неонатална инфекция в нашата клиника са следните: 1. Брой левкоцити: при ранна неонатална инфекция се установяват WBC под 8 000 и над 30 000 до 24 час; под 5 000 и над 20 000 до 72 час; 2. Отношението незрели към зрели неутрофили - St/Seg над 0.2 при ранни инфекции; 3. Наличието на тромбоцитопения–тромбоцити под 150 000; 4.Острофазовите белтъци след 24$^{-ти}$ час: CRP≥5mg%; 4. Клинична картина на ранна неонатална инфекция, настъпваща в първите три дни след раждането.

- **Кортикостероидна профилактика** се оценява като: **завършена** при проведен пълен курс на лечение 1-7 дни преди раждането; **незавършена** – при непълен курс или липсваща профилактика.
- **Теглото** при раждане се отчита чрез измерване в Родилна зала (РЗ) непосредствено след раждане с точност до 5 g.
- **Гестационната възраст** се изчислява на базата на 1-ви ден на последната редовна менструация (п.р.м.) с точност до 1 ден като: завършени гестационни седмици (+ 0 до 6 дни). Ако липсват данни за п.р.м. гестационната възраст се определя по пренатални ехографски данни или по морфологични критерии след раждането по системата на Hoepffner-Rautenbach според възприетата в клиниката практика.
- **Данни за интраутеринна ретардация:** Феталният растеж се оценява за всеки пациент в персентили в зависимост от гестационната възраст. Използват се новите растежни криви по Babson and Benda. За еутрофични приемаме новородените с тегло при раждането в границите на 10-90 персентил за съответната г.с., за хипотрофични – с тегло ≤ 10 персентил, а за тежка интраутеринна хипотрофия (ретардация) ≤ 3 персентил.

Б. ОЦЕНКА НА НАЧАЛНАТА ТЕЖЕСТ НА ЗАБОЛЯВАНЕ

- Клинична преценка на състоянието след раждането и необходимостта от реанимация се прави с динамична оценка по **Апгар скор на 1-ва и 5-та минута.** Тежестта на дихателната недостатъчност се оценява чрез използване на схемата на Силверман.
- **АКС** се изследва многократно по микрокръвен метод (0.2мл) в Клинична лаборатория към СБАЛАГ „Майчин дом" ЕАД, с апарат Rapid Lab 348/500: I проба – кръв от пъпна артерия, взета непосредствено след раждането в хепаринизирана спринцовка от клампиран участък на пъпната връв, или артериална кръв до края на първия час от живота; II проба преди началото на терапията с iNO; III проба на първия час след стартиране на терапията с iNO; следващи проби – след всяка промяна в дозата на медикамента.
- **Рентгенография на бял дроб –** при започване на апаратна вентилация при децата с PPHN; след 7-ми ден при недоносените деца, които са на апаратна вентилация. Провежда се в Клиника по неонатология от лаборант с рентгенов апарат Ralco R108F или Villa Visitor.
- **Ехокардиография –** провежда се от специалист по Детска кардиология преди започване на терапията с iNO с ехографски апарат Vivid™ iq - SGCART. Белодробна хипертония се дефинира при увеличено диастолно налягане с белодробната артерия над 15mmHg и увеличено систолно налягане в дясна камера / белодробна артерия над 35mmHg.

- **Чрез Трансфонтанелна ехография (ТФЕ)** се диагностицира мозъчно увреждане; провежда се задължително преди започване на терапията с iNO с ехографски апарат Vivid™ iq - SGCART. Степените на тежест на ИВК са съобразени с класификацията на Papile. За тежки се приемат ИВК III-IV ст.
- **Статус на кръвосъсирване –** използват се пресяващи коагулационни тестове (време на кървене, протромбиново време, активирано парциално тромбопластиново време, тромбиново време, фибриноген, d-димери); необходимо количество плазма – 0.5мл. Изследванията се провеждат в Клинична лаборатория към СБАЛАГ „Майчин дом" ЕАД с Автоматичен коагулометър Stago stasatellite и се интерпретират спрямо референтните стойности на лабораторията.

  Време на кървене - клинико-лабораторен показател, който се използва за оценка на функцията на тромбоцитите и способността им да формират съсирек.

  Протромбиново време - Протромбиновото време (PT) е един от показателите за състоянието на системата на кръвосъсирване. Представлява времето, за което се съсирва плазмата на пациент, след прибавяне на съответни реактиви – Neoplastine Cl plus Ca^{2+}. Измерва се в процент (%) или INR.

  Активирано парциално тромбопластиново време (aPTT) скринингов тест за оценка на активността на факторите от т.нар. вътрешна система на кръвосъсирването (ф.XII, XI, IX, VIII, X, V, II и I); използва се реактив Cephascreen.

  Тромбиново време (TT) - времето за превръщане на фибриногена във фибрин. Той се използва за диагностициране на нарушения на кръвосъсирването и за оценка на ефективността на фибринолитичната терапия.
- **Фибриноген** - Фибриногенът е фактор (фактор I) в процеса на кръвосъсирване, който се синтезира в черния дроб. За определяне на плазменото му ниво се използва реактив Stafibrinogen.
- **D-димери** - Образуваният в процеса на кръвосъсирване съсирек (фибрин) подлежи на разграждане, което се осъществява от фибринолитичната система на плазмата. Основен ензим в тази система е плазминът. Плазминът разгражда както неразтворим, така и разтворим фибрин и фибриноген. В резултат се образуват различни продукти, които се обозначават с общото понятие ФДП (FDP – fibrin/fibrinogen degradation products). D-димерът

(DD – димери между 2 D-фрагмента) е един от крайните продукти на фибринолизата**,** получен от разграждането на фибрин, стабилизиран от фактор XIIIa - фибрин i (i-insoluble /неразтворим). Той е най-малкият фибрин-деградационен продукт с кръстосани връзки. Плазменото ниво се определя чрез полуколичествен метод: латекс-аглутинация с реактив D-Di Test.

Оксигенационен индекс - OI = MAP.FiO₂/PaO₂.

MAP – средно налягане в дихателните пътища; изчислява се автоматично от респиратора за обдишване на детето, въз основа на подаваните налягания, инспираторни времена, къмплайънс и резистънс на белия дроб и дихателните пътища на пациента; колкото е по-високо MAP, толкова е по-тежко клиничното състояние на пациента и е по-висока вентилаторната му зависимост от респиратора.

FiO₂ – фракция на подавания кислород от респиратора; определя се от лекуващия лекар въз основа на клиничното състояние на пациента; колкото по-високи са O_2 нужди на детето, толкова по-тежко е клиничното му състояние.

- **PaO₂ –** парциално артериално налягане на кислород в кръвта; изследва се по микрокръвен метод и е един от показателите на АКС; показва насищането на артериалната кръв с кислород; колкото е по-ниска стойността на PaO_2, толкова е по-тежко състоянието на детето и са по-високи кислородните му нужди.

OI е показател за ефективността на вентилацията на дете на апаратна вентилация, като колкото е по-висок, толкова състоянието е по-тежко. По литературни данни стойност на OI над 20 е индикация за начало на лечение с iNO.

В. ОЦЕНКА НА КЛИНИЧНОТО СЪСТОЯНИЕ ПО ВРЕМЕ НА ТЕРАПИЯ

- **Оксигенационен индекс - OI = MAP.FiO₂/PaO₂**; на първия час след началото на терапията и при всяка промяна в концентрацията на подавания медикамент.
- **Ниво на метхемоглобин** - метхемоглобинът съдържа тривалентно желязо (хемиглобин) и поради това не може да пренася кислорода. Физиологичното съдържание на метхемоглобин в кръвта възлиза на по-малко от 1.5% от цялото количество хемоглобин; използва се 0.5 мл венозна кръв и нивото се определя чрез спекрофотометричен анализ на метхемоглобин в Лаборатория за определяне на тежки метали и метаболити на токсични вещества към УМБАЛ „Свети Иван Рилски”; пациентите се проследяват

също и чрез транскутанно измерване на нивото на метхемоглобин по време на терапията с апарат MasimoSet-Rad-97.

- **Статус на кръвосъсирване –** при клинични данни за хеморагия.
- **Трансфонтанелна ехография (ТФЕ) –** при неврологична симптоматика по време на терапия.
- **Ехокардиография –** при влошаване в клиничното състояние и ↑OI.
- **Транскутанна пулсоксиметрия –** непрекъснато и неинвазивно чрез неонатални пулсоксиметри – Masimo Radical (Nellcor N-560) Draeger Vista 120 се проследява сърдечна честота и кислородно насищане на кръвта (сатурация).

Г. МЕТОДИ ЗА ОЦЕНКА НА ЕФЕКТА ОТ ТЕРАПИЯТА

- **Ехокардиография –** след края на терапията или преди изписване
- **Трансфонтанелна ехография (ТФЕ) –** преди изписване и/или в 36 г.с.
- **Оценка на тежестта на БПД** в 36 г.с. БПД - необходимост от кислородна суплементация (фракция на подаван кислород $FiO_2 \geq 21\%$) за минимум 28 дни. За децата < от 32 г.с. класифицирането по тежест става при навършване на 36 г.с. или при изписване (което се случи първо), а за децата ≥ 32 г.с. тежестта се определя според O_2 нужди на 56 дни или при изписване (което се случи първо). Според тежестта БПД се класифицира като: **лека** – без допълнителен кислород, **средно тежка** – необходимост от кислородна суплементация под 30%, **тежка** – вентилаторна и/или кислородна зависимост с $FiO_2 \geq 30\%$.

2.2. <u>Статистическите методи за представяне и анализ на данните</u>

Използвани са следните методи за описание, представяне и анализ на данните:

А. Описателни методи

- За параметрите, измервани по неметрични скали (например, вид на операцията) е дадено разпределението като абсолютна (брой) и относителна (%) честота.
- За параметрите, измервани по метрични скали (например, продължителност на операцията, кръвозагуба и пр.) са дадени: брой на случаите, средна аритметична, стандартно отклонение, минимална, максимална стойности и медиана.

Б. Проверка на хипотези

- Точният Хи-квадрат критерий на Фишер беше използван за проверка на хипотезите за връзка между неметричните характеристики.

- Независимите групи бяха сравнявани с t-критерия на Стюдънт за две независими извадки.
- При свързани беше използван t-критерия на Стюдънт за две свързани извадки.

Навсякъде резултатът се приемаше за статистически значим, ако емпиричното ниво на значимост (p-стойността) е по-малко от 0.05.

V. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

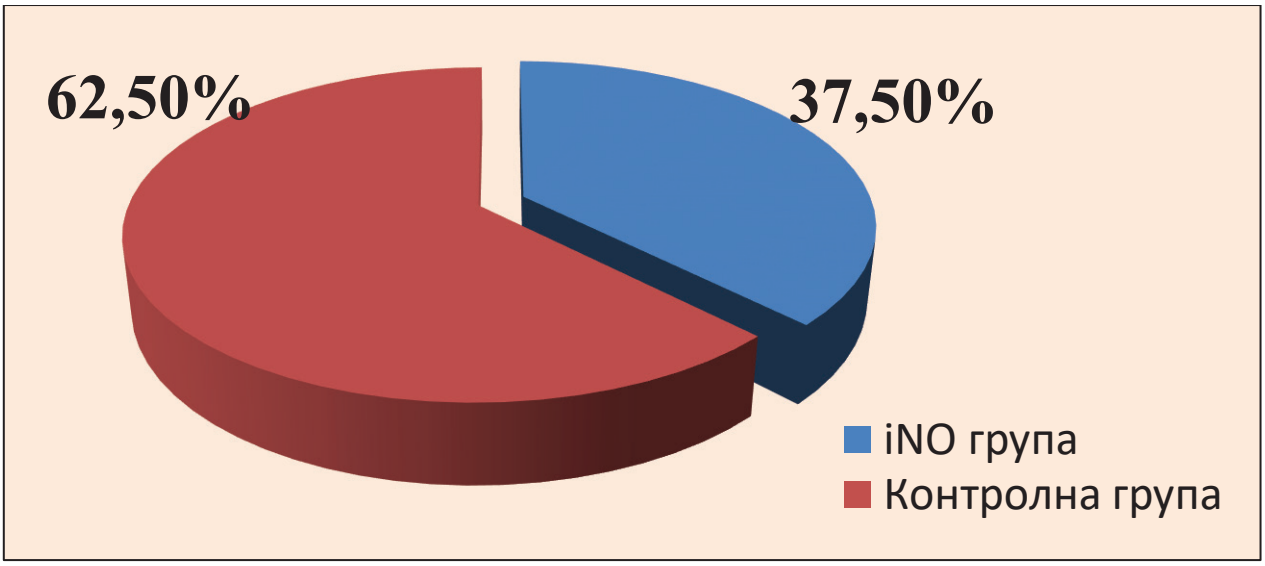
А. НОВОРОДЕНИ ДЕЦА НАД 34 Г.С. В КРИТИЧНО СЪСТОЯНИЕ

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИЯ КОНТИНГЕНТ ДЕЦА

Изследваният клиничен контингент обхваща **32** новородени деца над 34 г.с. в критично състояние с ехокардиографски поставена диагноза PPHN. Провеждането на терапия с iNO е критерий за разпределението на децата в две основни групи (фиг.1).

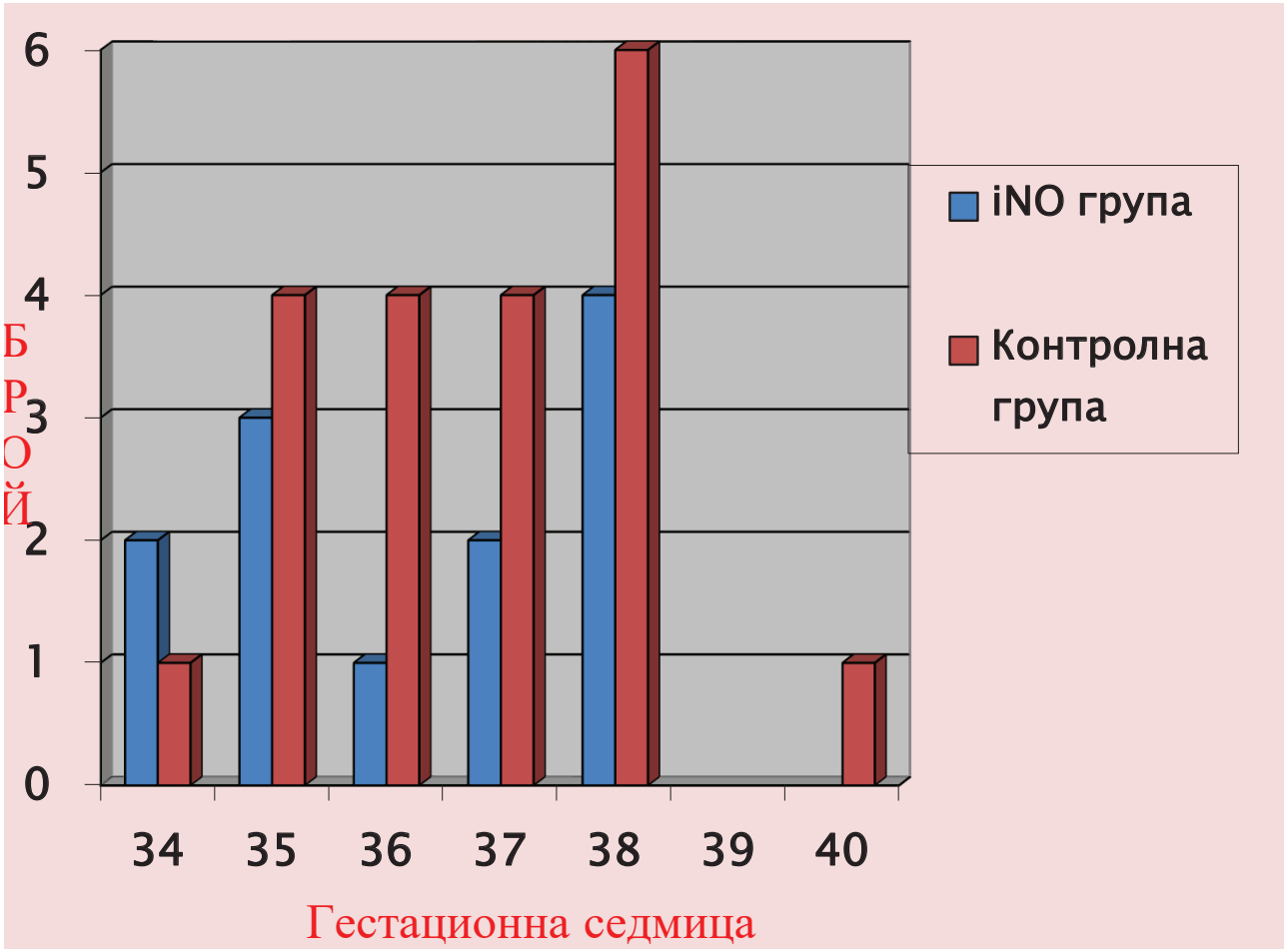
Първа група А – 12 деца (iNO група): Новородени деца с PPHN и гестационна възраст над 34 г.с., в критично състояние и опасност за живота, въпреки оптимална апаратна вентилация. Терапията с iNO се започва след ехокардиографско изследване за изключване на цианотичен сърдечен порок и за поставяне на диагноза PPHN – 37,5% от всички.

Първа група В – 20 деца (контролна): Проучване на новородени деца с PPHN, гестационна възраст над 34 г.с., в критично състояние, при които се прилага само оптимална апаратна вентилация – 62,5% от всички.



Фигура 1. Процентно разпределение на новородените по групи

На **фиг. 2** е представено разпределението на обхванатите в проучването деца според гестационната възраст. Не се установява статистически значима разлика между двете групи: средната гестационна възраст на първа група А е 36±2 седмици, а на контролната група е 37±1 седмици.



Фигура 2. Разпределение на децата в зависимост от гестационната възраст

На **фиг. 3** е представено разпределението на обхванатите в проучването деца според теглото при раждане. Липсва статистически значима разлика между двете групи: средното тегло на първа група А е 2739±539гр, а на контролната група е 3026±629гр.



Фигура 3. Разпределение на децата в зависимост от теглото при раждане

На **табл.1.** е представено разпределението на пациентите от двете групи по пол. И в двете групи преобладава мъжкият пол, но липсва статистически значима разлика при включените в проучването деца (p– 0.703).

Таблица 1. Разпределение на децата по пол

		Пол		Общо
		ж	м	
Група	Контролна	7	13	20
	iNO	**3**	**9**	**12**
Общо		10	22	32

Основните перинатални характеристики на двете групи новородени деца са представени на **табл. 2**.

Таблица 2. Перинатални характеристики на новородените

Характеристика*	iNO гр.(n=12)	Контр. гр. (n=20)	P
Тегло (g)	**2739 (1730-3500)**	**3026 (2050-4220)**	**0.199**
Гест. възраст (г.с.)	**36 (34-38)**	**36 (34-40)**	**0.428**
Мъжки пол, n (%)	**9 (75)**	**13 (65)**	**0.703**
ИУХ, n (%)	**1 (8)**	**5 (25)**	**0.097**
Апгар скор, 1 мин.	**<7 (2-7)**	**<7 (0-7)**	**0.231**
Апгар скор, 5 мин.	**<8 (5-9)**	**<8 (3-9)**	**0.603**
pH	**7.25 (7.00-7.40)**	**7.30 (6.9-7.41)**	**0.286**
МФИ, n (%)	**8 (66)**	**13 (65)**	**0.963**
Диабет, n (%)	**3 (25)**	**4 (20)**	**0.735**
Цезарово сечение, n (%)	**12 (100)**	**20 (100)**	

ИУХ – интраутеринна хипотрофия; МФИ – майчино-фетална инфекция

* Данните са представени като средна стойност с интервал в скобите или като брой и % (в скобите)

Обсъждане: Всички деца от двете групи са родени чрез Цезарово сечение, което се налага в последните десетилетия като част от активното акушерско поведение при патологична бременност, както и висока честота на елективни цезарови сечения [85,241]. Често родените по този механизъм деца имат забавена кардиопулмонална адаптация и транзиторна тахипнея, както и повишен риск за развитие на PPHN. Едновременно с това елективното Цезарово сечение е свързано с понижен риск от пареза на плексус брахиалис, неонатален сепсис, интрапартална асфиксия и неонатална енцефалопатия. Днес се счита, че за да се намалят негативните ефекти на елективното цезарово сечение, то трябва да се предприема не по-рано от 39 г.с.[244,236]. Представените перинатални данни на включените пациенти потвърждават тази теза - средната гестационна възраст е под 37 г.с., което е рисков фактор за повишена честота на заболявания на дихателната система при новородени деца.

Въпреки че, липсва статистически значима разлика между двете групи по отношение на пола, **мъжкият пол** значително преобладава - 22 момчета (68.75%) от всички включени деца в първа група. Редица проучвания установяват, че мъжкият пол е свързан с повишен риск от преждевременно раждане, интраутеринна хипотрофия и респираторен дистрес синдром [174,181]. Всички деца с ИУХ от двете групи са от мъжки пол, а това също е рисков фактор за развитие на респираторен дистрес синдрм след раждане.

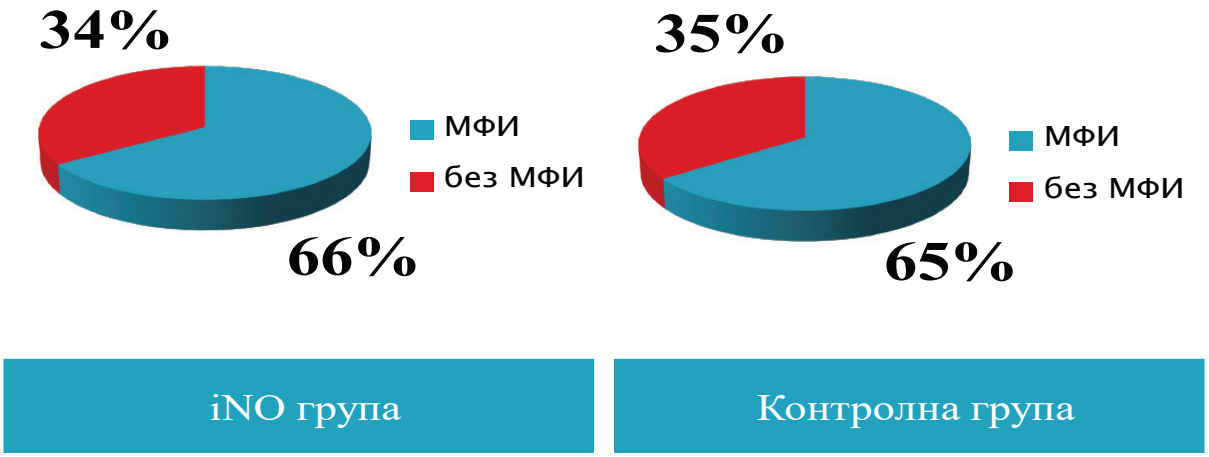
Децата с **ИУХ** са 6 (18.75%), като половината от тях са с тегло под 3 персентил за съответната гестационна възраст [79]. Две от децата с ИУХ са от двуплодна бременност. В нашата популация честотата на деца с ИУХ, особено с тежка степен на ретардация (под 3 персентил) е по–висока, сравнена с други перинатални центрове. Вероятните причини за това са: 1. Пренасочване на рисковите бременности с установена ретардация на плода към нашия перинатален център; 2. По-лоши социално-икономически условия, спрямо други европейски държави; 3. По-висока честота на непроследявани бременности в сравнение с повечето европейски държави; 4. Висока честота на дву- и триплодни бременности, насочени към нашия перинатален център. Редица проучвания установяват връзка между дихателната патология в неонаталния период и ИУХ. Статистически повишен риск за развитие на респираторен дистрес синдром се наблюдава при децата с ИУХ и гестационна възраст по-висока от 34 г.с. [93]. Тези данни не са изненадващи за нас, тъй като е установено, че при наличието на ИУХ, още вътреутробно белодробните структури и белодробната съдова мрежа са хипопластични и недоразвити. Тези структурни промени в белодробния паренхим обясняват защо новородените с ИУХ по-често развиват респираторен дистрес синдром и PPHN.

Оценката по **Апгар** е повлияна от гестационната възраст и теглото, и отразява моментната тежест на състоянието на детето в първите минути от живота. Апгар скорът има също така документално и статистическо значение за сравнение на

изходите при промени на поведението и въвеждане на нови техники и методи на реанимация в родилна зала в течение на годините [121]. Апгар скорът на 1 мин се използва предимно като критерий за тежестта на интрапарталната асфиксия, а ниският Апгар скор (≤5) на 5 мин е с известна прогностична стойност по отношение на неврологичните усложнения и се използва като рисков критерий за смърт или трайни неврологични увреждания. Прогностична стойност имат и задържащи се ниски оценки по Апгар след 5 минута.

Новородените деца в изследваните групи имат данни за умерена по тежест интрапартална асфиксия според стойностите на Апгар скора на 1 мин. Липсва статистически значима разлика между двете групи по отношение на този показател (p-0.231). Не се установява статистически значима разлика между групите по отношение на по-обективния критерий за интрапартална асфиксия, а именно pH от пъпна връв (p-0.286). От общо 32 деца в изследваните групи 5 новородени (15.6%) са с данни за тежка интрапартална асфиксия с Апгар скор ≤ 3 на 1 мин и pH ≤7.10 от пъпна артерия. При тези 5 деца (2-iNO група, 3-контролна група) е проведено спешно цезарово сечение, поради токографски данни за фетално страдание. Субгрупов анализ установи, че при тези пет новородени деца има данни за МФИ (висок CRP при майката и новороденото). Редица проучвания установяват наличието на връзка между перинаталната асфиксия и развитието на РДС и PPHN при доносени новородени деца, а тежката асфиксия и майчино-феталната инфекция са едни от най-рисковите фактори за развитие на РДС при доносени деца [154]. Вероятно се дължи на следните две причини: 1. Острото белодробно увреждане, причинено от тежката асфиксия при раждане и/или майчино-феталната инфекция намалява синтеза и секрецията на сърфактант; 2. Хипоксията и/или майчино-феталната инфекция намалява активността на сърфактанта и води до неговата инактивация. Нещо повече тежката асфиксия и МФИ могат да доведат до повишена смъртност и удължен болничен престой при тези пациенти [119]. Средната стойност на Апгар скора на 5 мин при изследваните групи е над 7, като отново липсва статистически значима разлика между двете групи (p-0.286). Тъй като този критерий носи информация за ефективността на проведената реанимация в родилна зала и има прогностична стойност по отношение на неврологичното развитие при децата, считаме че при включените в проучването пациенти е проведена ефективна реанимация и имат добра прогноза по отношение на дългосрочни неврологични увреждания. Изключение правят две деца от контролната група, при които Апгар скорът на 5 мин остава нисък ≤5, развиват тежка Хипоксично-исхемична енцефалопатия и загиват по време на болничния престой.

При анализа на перинаталните данни на включените в проучването пациенти прави впечатление високата честота на майчино-фетални инфекция **(МФИ) (фиг.4).**



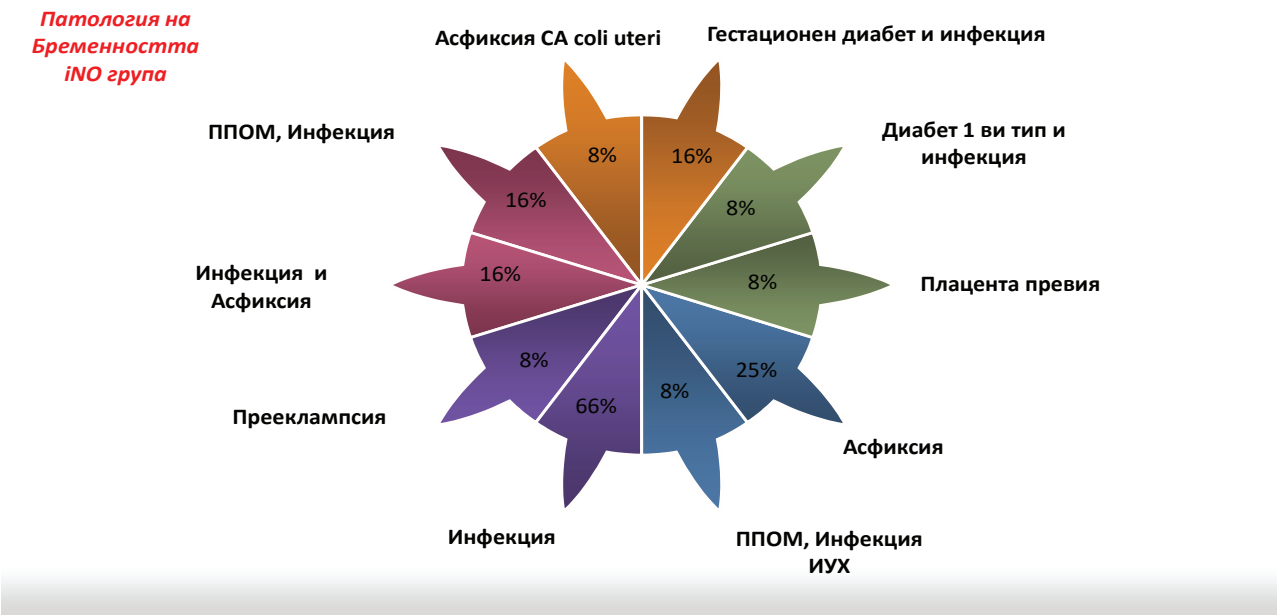
Фигура 4. Разпределение на пациентите в зависимост от наличието на МФИ
(МФИ – майчино-фетална инфекция).

Почти 2/3 от включените в проучването пациенти имат МФИ. Между двете групи липсва статистически значима разлика по отношение на този показател (p-0.963). Според редица проучвания PPHN е често усложнение на неонаталната пневмония и сепсис. В тези случаи тя настъпва вторично, като бактериалните ендотоксини причиняват белодробна хипертония по няколко механизма, включително освобождаването на тромбоксан, ендотелин и други цитокини с вазоконстриктивен ефект [231]. При последващия анализ на тази група пациенти с данни за МФИ прави впечатление, че те имат най-високи стойности на OI при започване на апаратна вентилация и/или терапия с iNO, т.е. тяхното клинично състояние е най-тежко. Можем да направим заключението, че наличието на данни за МФИ е рисков фактор от голямо значение, който определя не само по-голямата вероятност за развитие на PPHN, но също така по-тежкото протичане на заболяването и съответно по-лошата прогноза по отношение на дългосрочните увреждания.

При разглеждането на рисковите перинатални фактори за развитие на PPHN интерес представлява наличието на **Диабет** при майката. От включените 32 деца при 7 (22%) се открива диабет на майката (3 с първи тип диабет и 4 с гестационен диабет). Между двете изследвани групи липсва статистическа разлика по отношение на този показател (p-0.735). Новородените на майки с първи тип диабет са с данни за ИУХ, а при тези на майки с гестационен диабет се наблюдава макрозомия. Контролът на заболяването при майките не е добър с нива на гликиран хемоглобин HbA1c >8%. Терапията на майките през бременността е провеждана или с инсулин или само с диета (2 от пациентките). Редица клинични проучвания изследват връзката между затлъстяване и диабет на майката от една страна, и развитието на PPHN при новороденото дете от друга страна. Потенциалната причина отново се търси в наличието на проинфлама-

торна среда, в която се развива плода: 1. Намаляване на антиинфламаторните ефекти на инсулина; 2. Секреция на проинфламаторни цитокини [189]. В допълнение майчината хипергликемия води до up-регулация на феталния инсулин и макрозомия, което би могло да доведе до повишен риск от родов травматизъм и усложнения, някои от които могат да допринесат за развитието на PPHN. Според данните на някои проведени до момента проучвания съществува по-висок риск за развитие на PPHN при новородени на майки с диабет първи тип, поради това, че фетуса се развива в хронично проинфламаторна среда, което неминуемо се отразява на матурацията на белия дроб. Малкият брой на пациентите в нашето проучване е лимитиращ фактор за установяване на такъв тип зависимост. При последващия анализ на тази група пациенти с данни за диабет на майката прави впечатление, че те имат високи стойности на OI при започване на апаратна вентилация и/или терапия с iNO, т.е. тяхното клинично състояние е тежко. Можем да направим заключението, че диабетът на майката (особено, ако е с лош метаболитен контрол) е свързан с по-висок риск от развитие на PPHN, по-тежко протичане на заболяването и по-висок риск от неблагоприятен изход.

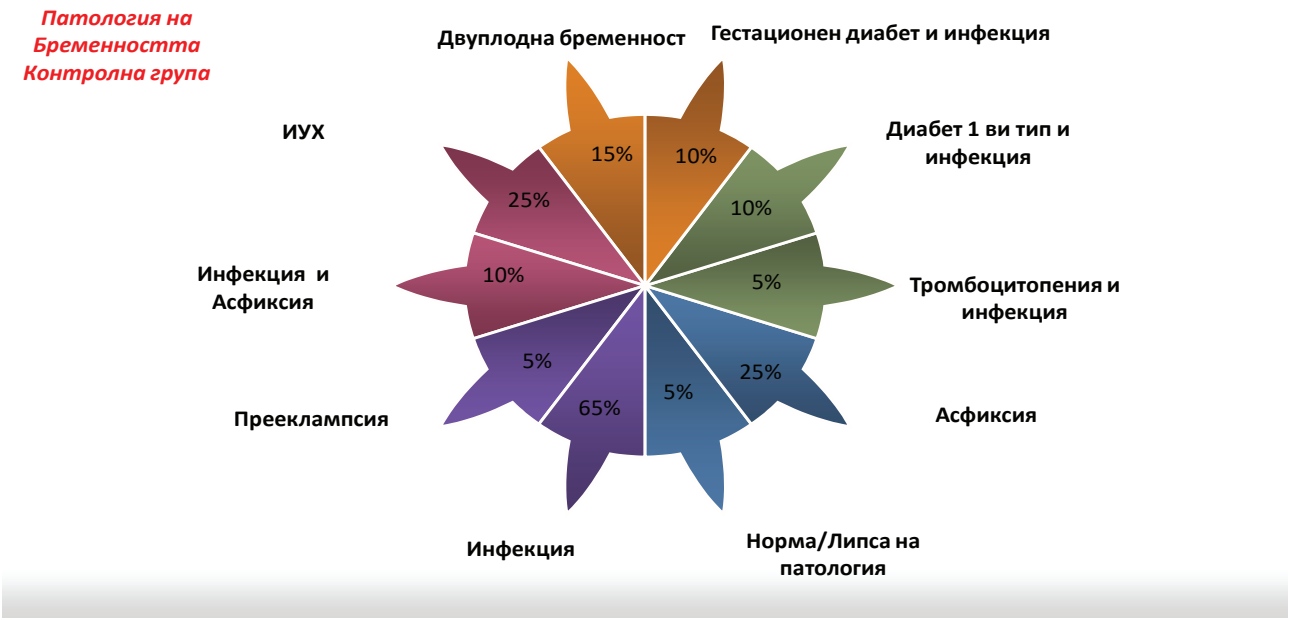
Концентрацията на тежка патология в нашия перинатален център определя и разнообразието на усложнения на бременността, което наблюдаваме при пациентите. На **фиг. 5** и **фиг. 6** е представено графично изображение на заболеваемостта по време на бременност при двете изследвани групи новородени.



Фигура 5. Патология на бременността при iNO група

ППОМ – преждевременно пукнат околоплоден мехур;

Ca coli uteri – карцином на шийката на матката



Фигура 6. Патология на бременността при Контролна група
ИУХ – интраутеринна хипотрофия

Процентът на заболеваемост в двете фигури надхвърля 100, тъй като в повечето случаи има повече от едно заболяване през бременността.

2. АНАЛИЗ НА ТЕЖЕСТТА НА ОСНОВНОТО ЗАБОЛЯВАНЕ, ПРЕДИ НАЧАЛОТО НА ТЕРАПИЯТА С iNO

PPHN може да бъде идиопатична (10%) или да възникне вторично (90%) в резултат на някои неонатални белодробни заболявания, които водят до забавяне на релаксацията на белодробното съдово русло. Често белодробни заболявания като вродена диафрагмална херния, респираторен дистрес синдром (РДС), пневмония, мекониален аспирационен синдром (МАС) и транзиторна тахипнея на новороденото (ТТ) са свързани с развитието на PPHN. Някои от редките състояния, свързани с развитие на PPHN, са алвеоларна капилярна дисплазия, хиалинно-мембранна болест, причинена от мутации на сърфактант протеин B (SP-B) генът и дихателна недостатъчност в резултат на дефицит на ATP-свързващ мембранен протеин A3 (ABCA3) [101,210]. Наскоро Byers et al откриват генетична асоциация: PPHN е силно асоциирана с генетични вариации в corticotropin-releasing hormone (cRh) receptor 1, CRHR1 и cRh-binding protein, CRHBP [48].

Активацията на фактори на възпалението, като тромбоксан А2, ангиотензин II и различни цитокини, както и абнормната белодробна съдова маскуларизация могат да имат участие в развитието на белодробната хипертония, наблюдавана при новородените. Това се подрепя от данните за открити високи нива на левкотриени, тромбоцит-активиращ фактор, тромбоксани и ендотелин-1 (ET-1) про новородени с PPHN [70,150].

Множество механизми допринасят за хипоксичната дихателна недостатъчност и PPHN при новородени с асфиксия: фетална хипоксемия, мекониална аспирация, десностранна и лявостранна камерна дисфункция, коагулационни нарушения, хипероксична ресусцитация и негативни ефекти на механичната вентилация [151]. Ацидозата и хипоксията увеличават белодробното съдово съпротивление. В клинични проучвания за хипотермия при перинатална асфиксия средно около 20% от асфиктичните деца в контролната група и около 25% в групата с хипотермия са диагностицирани с PPHN [207]. Основните заболявания, свързани с развитието на PPHN при изследвания контингент деца, са представени на **табл. 3**.

Таблица 3. Заболявания, свързани с развитие на PPHN

Заболяване*	iNO гр. n=12	Контр. гр. n=20	Начало на А.В. след раждане
Пневмония	3 (25)	8 (40)	6 час
РДС	3 (25)	6 (30)	3-4 час
Асфиксия	2 (16.6)	2 (10)	30 мин
МАС	3 (25)	3 (15)	30 мин
Белодробен кръвоизлив	3 (25)	2 (10)	7-8 час
Пневмоторакс	1 (8.3)	1 (5)	11-12 час

РДС – респираторен дистрес синдром; МАС - мекониален аспирационен синдром;
А.В. – апаратна вентилация; *Данните са представени като брой или % (в скобите);
началото на И.В. е представено като средна стойност за групата

Обсъждане: От представените данни ясно се вижда, че при пациентите, включени в проучването, водещите заболявания, които са свързани с развитие на PPHN, са пневмонията, РДС и МАС. Честотата на асфиксията в нашата популация пациенти не е висока, поради тази причина и честотата на PPHN при тези деца е сравнително ниска. Ниската честота на перинатална асфиксия в нашия перинатален център най-вероятно се дължи на: 1. Активно проследяване и адекватни перинатални грижи са всички високорискови бременности; 2. По-висока относителна честота на оперативното родоразрешение.

Високата честота на новородени с пневмония, МАС и РДС корелира с високата честота на майчино-фетални инфекции. Не сме доказали генетични дефекти, които биха били в основата на развитието на PPHN.

На **табл.3** е представено времето след раждане на децата, когато е започната апаратна вентилация, поради развитие на дихателна недостатъчност. При децата с МАС и асфиксия апаратната вентилация започва почти веднага след раждане (средно на 30 мин след раждането). Повечето от тях се интубират още в родилна зала (по протокола за реанимация на новородени ILCOR) [24]. При децата с пневмония; белодробен кръвоизлив и пневмоторакс (които често са усложнения на

неонаталната пневмония) апаратната вентилация започва по-късно (обикновено след шестия час). Причината е, че за развитие на основното заболяване (пневмония) е необходимо време. Липсва разлика между двете групи деца по отношение на белодробните заболявания, които довеждат до развитие на PPHN (табл. №3). В контролната група децата с пневмония са близо 40%, но лиспва статистически значима разлика спрямо iNO-групата (p-0.097). Липсва статистически значима разлика в двете групи по отношение на времето на започване на апаратна вентилация след раждането (**табл.4.).**

Таблица 4. Час на започване на А.В. след раждането

Група		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
А.В./час на стартиране от раждането	**iNO**	**12**	**3,500**	**3,1766**	**0,9170**
	Контрола	20	5,300	6,3254	1,4144

А.В.- апаратна вентилация; (p-0.368)

По отношение на начало на **А.В. след раждането** не се установява статистически значима разлика между двете групи - 95% CI -5.8-2.2; **p-0.368** (използван е множествен логистичен регресионен анализ на променливи и теста на Mann-Whitney-**p-0.581**).

При всички новородени от двете групи е проведена кардиологична консултация след началото на апаратната вентилация и след установяване на водещото белодробно заболяване. Всички 32 новородени (100%) са с ехокардиографски поставена диагноза: Белодробна хипертония; дясно-ляв шънт през отворени фетални комуникациия; трикуспидална инсуфициенция III-IV степен се открива при 14 (44%) от децата, като в iNO групата са 5 (42%), а в контролната група са 9 (45%). Тежката степен на трикуспидална инсуфициенция корелира с по-тежка степен на PPHN.

Оценката на тежестта на PPHN се базира на показателя **Оксигенационен индекс (OI)**. Според OI заболяването PPHN се определя като:

- Лека PPHN <15 OI
- Умерена PPHN 15≥25 OI
- Тежка PPHN 25≥40 OI
- Много тежка PPHN >40 OI

Анализа на OI при започване на апаратна вентилация установи следните особености:

iNO група:

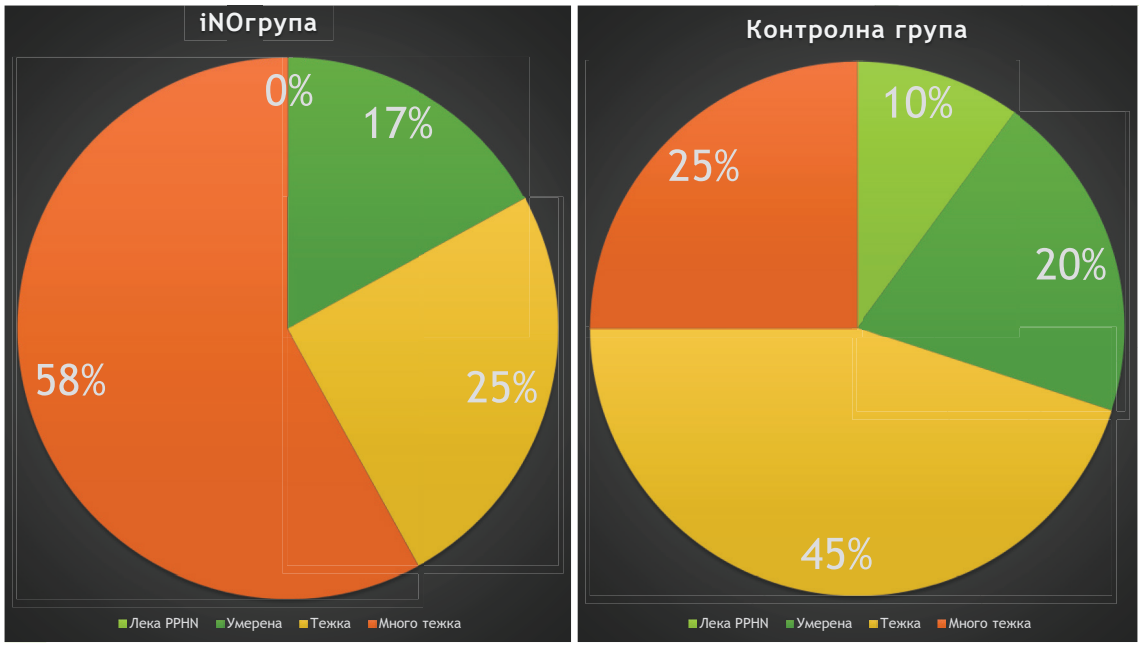
- Най-висок е процентът на децата с много тежка PPHN – 58%

- Липсват деца с лека PPHN
- Най-висок OI имат децата с перинатална асфиксия, съчетана с инфекция
- Две от децата с най-висок OI преди започване на лечение са с неблагоприятен изход

Контролна група:

- Има деца с лека PPHN - 10%
- Децата с много тежка PPHN са 25%
- Преобладават децата тежка PPHN – 45%
- И в тази група най-висок OI имата децата с инфекция, MAC и асфиксия
- Неблагоприятен изход имат деца, както с много висок OI в началото на заболяването, така и деца с нисък OI.

На **фиг.7** е представено разпределението на пациентите в двете групи въз основа на тежестта на PPHN чрез използване на обективния критерий за тежест OI.



Фигура 7. Разпределение на пациентите спрямо тежестта на PPHN
PPHN – персистираща белодробна хипертония при новороденото

Обсъждане: Анализът на началната тежест на заболяването и PPHN при пациентите включени в проучването показва, че по-голяма част от тях се намират в критично, животозастрашаващо състояние преди началото на терапията. При новородените в iNO групата преобладават пациентите с много тежка форма на PPHN, при тях стойностите на OI са толкова високи, че би следвало тези новородени да бъдат лекувани чрез Екстракорпорална мембранна оксигенация (ECMO), метод, който не се прилага в нашия перинатален център.

Според протоколите на големи перинатални центрове новородено, което е доносено или на възраст >34г.с. с OI≥25, трябва да получи лечение в перинатален център, който разполага с високочестотна осцилаторна вентилация (HFOV), iNO и възможност за провеждане на ECMO [23]. Въпреки че, при дългосрочно проследяване терапията с iNO не се свързва със сериозни странични ефекти, в центрове без достъп до ECMO медикаментът iNO не намалява смъртността, продължителността на болничния престой или риска от неврологични увреждания, свързани с PPHN [86].

До този момент остава неясен кой е оптималният праг за начало на терапията с iNO. OI по правило се използва за оценка на тежестта на PPHN. В редица рандомизирани проучвания деца, родени след 34 г.с. с OI ≥25 на апаратна вентилация са рандомизирани за лечение с iNO. Тези проучвания доказват, че терапията с iNO намалява нуждата от ECMO, но няма съществен позитивен ефект по отношение на смъртността в тази група пациенти [163]. Едно ново проучване изследва по-ранно приложение на iNO при новородени с умерена по тежест хипоксична дихателна недостатъчност, чийто среден OI е около 22. Изследователите установяват подобрена оксигенация и намаляване на вероятността за развитие на тежка хипоксична дихателна недостатъчност, сравнени с деца, които получават iNO терапия едва когато OI е над 40. Резултатите от това изследване предполагат, че започването на терапията с iNO в по-ранна фаза на заболяването е свързано с понижена нужда от ECMO [9].

В проучване, проведено в Европа при деца ≥33 г.с., ранното лечение с iNO е свързано с по-кратка продължителност на апаратната вентилация и по-къс престой в неонатално интензивно отделение [220]. Установено е, че по-ранното лечение е финансово по-изгодно, поради намаляване на вероятността децата да развият тежка хипоксична дихателна недостатъчност [27]. Предполага се, че по-ранното приложение на iNO може да се отрази положително и на отговорът към лечението, но са необходими още рандомизирани клинични проучвания, които да установят дали приложението на iNO при по-ниски стойности на OI увеличава процента на децата "responders" (≥20% понижение на OI).

В нашия перинатален център терапията с iNO започва веднага след провеждане на консултация с детски кардиолог и поставяне на диагноза PPHN ехокардиографски. За всички пациенти, включени в проучването, това съответства на максимум два часа след началото на апаратната вентилация. Въпреко краткото време повечето деца са с тежка и много тежка степен на PPHN, т.е. с високи стойности на OI.

На **табл. 5** са представени средните стойности на OI при започване на апаратната вентилация в двете групи.

Таблица 5. OI в началото на изкуствената вентилация

	Група	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
OI при старт на И.В.	**iNO**	**12**	**49,417**	**20,9782**	**6,0559**
	Контрола	20	32,750	17,2318	3,8531

OI – оксигенационен индекс; И.В. – изкуствена вентилация; (**p-0.021**)

По отношение на показателя **OI в началото на И.В.** се установява статистически значима разлика между двете групи - 95% CI 2.72-30.60; p-0.021 **(**използван е множествен логистичен регресионен анализ на променливи и теста на Mann-Whitney: p-0.023). Тези данни подкрепят факта, че децата в iNO-групата са в по-тежко общо състояние в сравнение с контролната група. Обяснението на този резултат е, че при всички деца от iNO-групата лечението с iNO е приложено като "rescue" терапия, когато всички останали методи на конвенционално лечение на PPHN (HFOV, Dopamin) не дават резултат.

3. АНАЛИЗ НА ТЕРАПЕВТИЧНИЯ ЕФЕКТ НА iNO ПОСРЕДСТВОМ OI

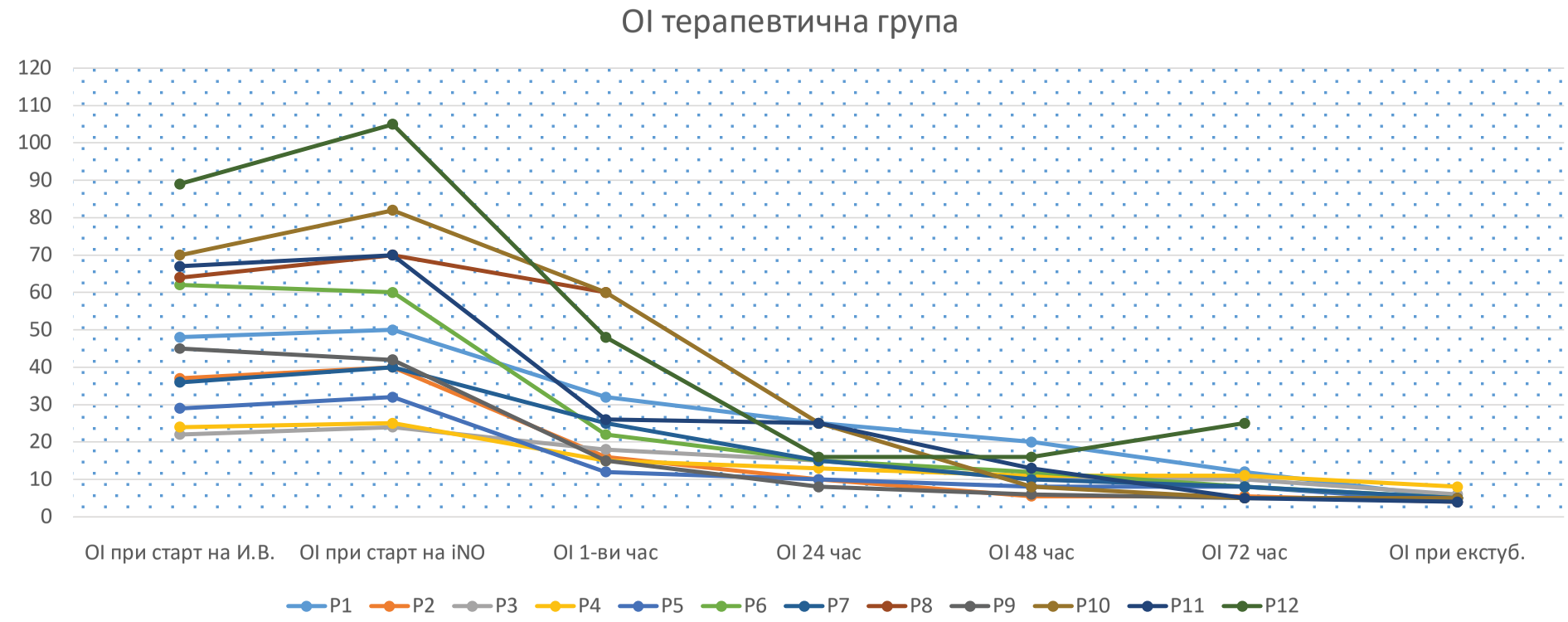
Мета-анализ на седем рандомизирани проучвания за приложение на iNO при новородени с PPHN доказва, че около 58% от децата имат положителен отговор към лечението в рамките на 30 до 60 мин [83]. Докато използването на iNO не понижава смъртността в нито едно анализирано проучване до момента, то нуждата от спасителна ECMO терапия чувствително е понижена.

Отговор на терапията с iNO се дефинира като ≥10% увеличение на парциалното артериално налягане на O_2 (PaO_2) или ≥20% намаление на OI след началото на терапията, без нужда от провеждане на ECMO. Това са т.нар. „responders". Относително висок процент от новородени с хипоксична дихателна недостатъчност не показват веднага отговор към терапията и често се приемат за „non-responders". Промените в PaO_2 и OI веднага след началото на терапията са недостатъчно прецизен биомаркер за отговорът към терапията при деца с хипоксична дихателна недостатъчност. При някои новородени, лекувани с iNO, отнема поне 24 часа след началото на терапията да се установи подобрение в оксигенацията.

Това са причините, поради които децата, включени в проучването, са проследявани за стойностите на OI динамично в рамките на 72 часа след началото на терапията и/или до прекратяване на апаратната вентилация. На **фиг.8** и **фиг.9** е представена динамиката на OI спрямо времето при двете групи пациенти.

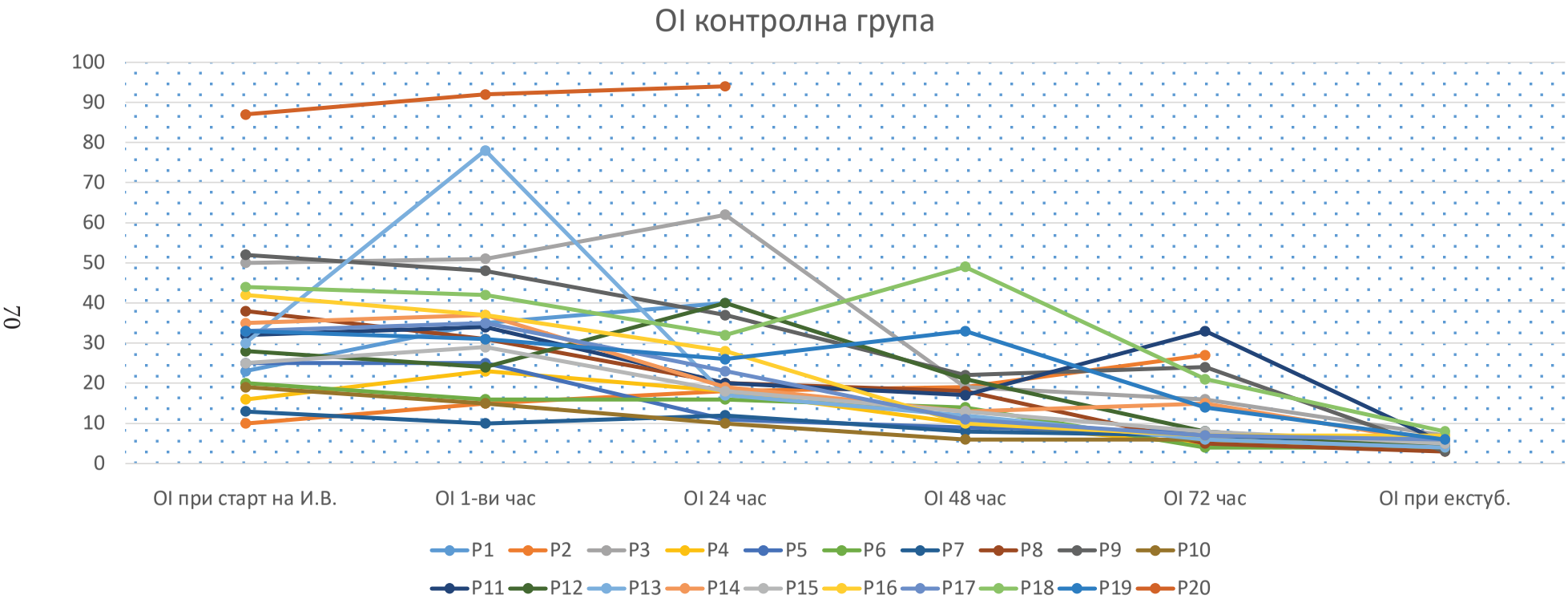
При анализ на динамиката на OI при двете групи пациенти се установяват следните особености:

- Стойностите на OI се понижават във времето и при двете групи; изключение е един пациент от контролната група, който е с тежка асфиксия и MAC при раждане с неблагоприятен изход и exitus letalis преди 48 час след раждането
- В iNO групата стойностите на OI са по-високи при стартиране на терапията с iNO в сравнение с началото на апаратната вентилация; т.е. състоянието на пациентите прогресивно се влошава
- Стойностите на OI при екстубация са по-ниски от 10 и при двете групи пациенти
- В iNO групата още на първия час от терапията се наблюдава рязко спадане на стойностите на OI
- Повторен рязък спад на OI се наблюдава и на 24 час в iNO групата
- В контролната група понижението на стойностите на OI е плавно, с колебания към покачване при част от пациентите на 1, 24 и 48 час след началото на апаратната вентилация
- На 1, 24 и 48 час средните стойности на OI са отчетливо по-високи в контролната група.



Фигура 8. Динамика на OI в iNO група

И.В.- изкуствена вентилация; OI – оксигенационен индекс



Фигура 9. Динамика на OI в Контролна група

И.В.- изкуствена вентилация; OI – оксигенационен индекс

Обсъждане: Данните, представени в проучването, не се различават от проведените до този момент рандомизирани проучвания по отношение на динамиката на OI при приложение на iNO [83]. Повечето от пациентите реагират с позитивен отговор още в рамките на първите 60 мин след началото на терапията с iNO. Въпреки това, от графиките се вижда, че 60 минути не е достатъчно ясна и обективна граница за разграничаване на "responders" и "non-responders". Някои пациенти показват отчетливо подобрение в оксигенацията след 60та минута от началото на лечението. Може да се направи заключението, че оксигенационните отговори при тази популация пациенти са усложнени и могат да се променят относително бързо. Поради тези причини е от съществено значение при пациенти с хипоксична дихателна недостатъчност да продължи стриктното мониториране на клиничното състояние и да се очакват относително бързи промени в оксигенационния статус и протичането на заболяването.

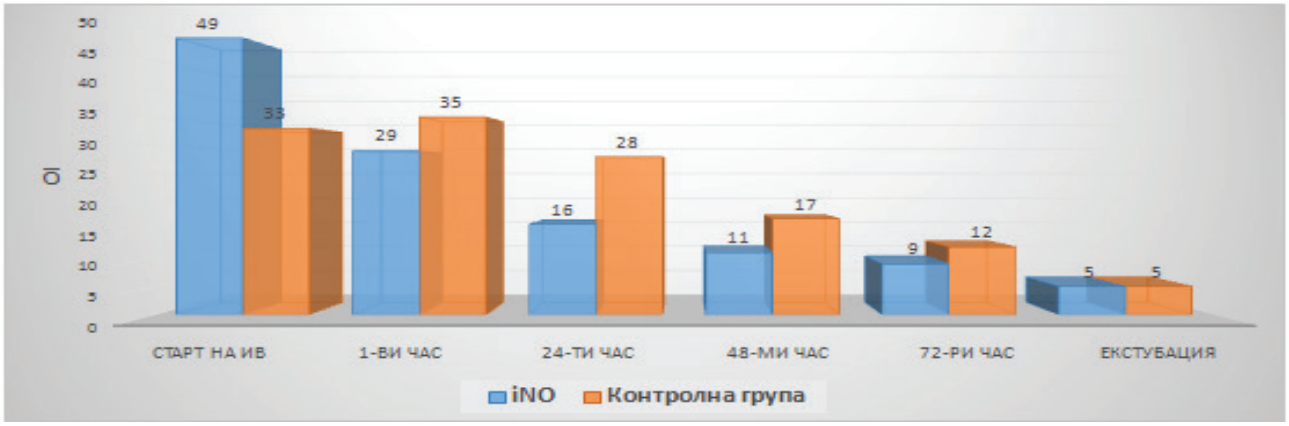
На **табл. 6** е представен сравнителен анализ по отношение на средната стойност на OI в двете групи в различни часове след началото на терапията.

Таблица 6. Средна стойност на OI по часове в двете групи

	Група	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	P	P MW-test
OI при старт на И.В.	**iNO**	**12**	**49,417**	**20,9782**	**6,0559**		
	Контрола	20	32,750	17,2318	3,8531	0.021	0.023
OI 1 час	**iNO**	**12**	**29,083**	**17,4171**	**5,0279**		
	Контрола	20	35,400	20,2573	4,5297	0.376	0.293
OI 24 час	**iNO**	**11**	**16,09**	**6,252**	**1,885**		
	Контрола	20	28,05	19,959	4,463	0.021	0.016
OI 48 час	**iNO**	**11**	**10,86**	**4,313**	**1,301**		
	Контрола	18	16,89	10,278	2,423	0.077	0.050
OI 72 час	**iNO**	**11**	**9,32**	**5,763**	**1,738**		
	Контрола	18	12,28	8,662	2,042	0.325	0.585
OI при екстубация	**iNO**	**10**	**5,10**	**1,197**	**,379**		
	Контрола	17	5,00	1,414	,343	0.853	0.796

И.В.- изкуствена вентилация, OI – оксигенационен индекс, MW-test – Mann-Whitney test

Децата от iNO групата са със сигнификантно по-високи стойности на OI при стартиране на апаратната вентилация. Сигнификантно по-голямо понижение на OI се наблюдава в iNO групата на 24 и 48 час след началото на терапията. След 72 час не се открива сигнификантна разлика между двете групи, като средната стойност на OI е около 10. При екстубация също липсва разлика по отношение на OI между групите (OI≈5), което отговаря на степенното подобрение в клиничното състояние на новородените деца (**фиг. 10**).



Фигура 10. Динамика на OI в двете групи (ИВ – изкуствена вентилация)

Установяват се следните особености (**фиг.10.**):

- OI е по-висок в iNO групата спрямо контролната група единствено при стартиране на изкуствената вентилация
- В iNO групата OI в рамките на първия час се понижава почти двойно (от 49 на 29 средна стойност), което съответства на 41%; логичното заключение е, че децата в терапевтичната група са „responders", тъй като имат ≥20% понижение на OI
- В контролната група OI на първия час е с по-висока средна стойност отколкото при стартиране на апаратната вентилация
- На 24 час понижението на OI в iNO групата е 68% спрямо началната стойност, а в контролната група едва 15%; същата тенденция се наблюдава и на 48 час. Това са и времевите интервали, в които има статистически значима разлика между двете групи
- След 48 час понижението на стойностите на OI в двете групи не се различава
- Децата в двете групи са екстубирани при сравнително ниски стойности на OI; обяснението на този факт за iNO групата е свързано с повишен риск за настъпване на "rebound" ефект, т.е. повторно влошаване на състоянието на децата при понижение на дозата на iNO.

Обсъждане: Основната теза в настоящото проучване е: Преодоляването на белодробната вазоконстрикция чрез iNO ще доведе до подобрение на оксигенацията и ще спомогне за по-бързо прекратяване на вентилаторното подпомагане на децата. Стратегията е успешна - новородените от iNO групата съвсем логично изискват все по-малко вентилаторно подпомагане спрямо контролната група, което е видно от статистически значимите разлики в OI на 24 и 48 час. Средната продължителност на терапията с iNO в нашето проучване е **98±12 часа,** което е подобно на докладваното от Kinsella et al. (95±13 часа) и Finer et al. (91±67 часа SD) [131,84].

Друг важен резултат от проучването е, че токсичността на iNO е подобна на тази, докладвана от други автори [112]. Нивата на метхемоглобин не надвишават 5% при нито един пациент **(средно 1.42%, нива 0-3.5%).** Честотата на хеморагични прояви не е повишена по време на терапията с iNO.

OI е най-често използван за оценка на тежестта на хипоксичната дихателна недостатъчност и PPHN в неонаталните интензивни отделения. Този индекс се смята за по-добър индикатор на белодробната увреда в сравнение с **P/F** отношение: PaO2/ FiO2 – отношението между парциалното артериално налягане на O_2 и концентрацията на подавания инспираторен O_2 [92]. Обяснението на този факт е, че за изчисляване на OI се използва стойността на Средното налягане в дихателните пътища (MAP), който от своя страна е важен индикатор на оксигенацията. На този етап както клиничните протоколи, използвани в практиката, така и протоколите, използвани в клиничните рандомизирани проучвания, използват OI при оценка на терапията при хипоксична дихателна недостатъчност и PPHN.

При използване на OI в неонаталните интензивни отделения се установяват няколко недостатъка:

- Методът е инвазивен и изисква или постоянен артериален катетър или често вземане на артериална кръв
- Изчислява се интермитентно, само в часовете, когато се взема кръвногазов анализ
- Има значение къде се намира артериалния катетът – предуктално или постдуктално
- Не е напълно изяснено в каква степен стойността на OI корелира с тежестта на белодробното заболяване или с белодробното съдово съпротивление при PPHN.

Поради тези причини за оценка на терапевтичния ефект на iNO се изследват и други методи. Един от най-често използваните е Оксигенационния сатурационен индекс (**OSI**), който за разлика от OI е неинвазивен [192]. Въпреки редица предимства на този метод и най-вече неговата неинвазивност, ние избрахме да се доверим на OI в настоящото проучване поради следните причини:

- OI е индексът, който е използван от всички големи рандомизирани клинични проучвания за терапевтичния ефект на iNO при PPHN
- OSI не корелира със стойностите на белодробното съдово съпротивление при PPHN и не е надежден показател за оценка на тежестта на заболяването при много ниски или съответно много високи стойности на предукталната SpO_2.

4. АНАЛИЗ НА КРАТКОСРОЧНИЯ ИЗХОД ОТ ТЕРАПИЯТА

Оценката на краткосрочния ефект от приложението на iNO при новородени деца с хипоксична дихателна недостатъчност и PPHN включва: а) продължителността на апаратната вентилация; б) броя дни на кислородотерапия; в) продължителността на болничния престой; г) летален изход.

Още първите проучвания върху iNO търсят отговор на тези въпроси [176]. Резултатите от почти всички показват, че липсва статистически значима разлика по отношение на продължителността на болничния престой, както и дните на кислородотерапия и апаратна вентилация между групите, провеждащи iNO терапия и контролните групи. Статистически значима разлика често е докладвана по отношение на намаляване на смъртния изход, както и процента деца, които въпреки проведеното лечение имат нужда от ECMO.

В настоящото проучване броят на децата е малък, а това е ограничаващ фактор за изследване на ефекта от терапията върху смъртния изход. Анализът на краткосрочния изход от терапията с iNO, сравнявайки двете групи по отношение на летален изход, както и изход при оцелелите деца е в Обобщените данни, представени на **таблица 7**.

Таблица 7. Анализ на краткосрочния изход от терапията

Характеристика*	iNO гр. n=12	Контр. гр. n=20	P
Смърт, n(%)	2 (16)	3 (15)	0.634
OI 24 час	16±6.3	28±19.9	**0.021**
OI 48 час	10.8±4.3	16.9±10.2	**0.050**
OI 72 час	9.3±5.7	12.2±8.6	0.325
OI при екстубация	5.1±1.2	5.0±1.4	0.853
Болничен престой (дни)	17.3±8.8	16.2±7.8	0.725
И.В. (дни)	7.3±3.2	6.1±3.6	**0.340**
O_2 (дни)	6.4±2.7	7.1±3.4	**0.457**

OI – оксигенационен индекс; И.В. – изкуствена вентилация; O_2 – кислородотерапия;

* Данните са представени като средна стойност с интервал в скобите или като брой и % (в скобите)

PPHN е едно от най-тежките белодробни заболявания, което възниква в неонаталния период. Среща се с честота едно на 500 живородени деца и има изключително висока смъртност. Около 10-50% от засегнатите деца умират (според различни източници), а 7-20% от оцелелите новородени развиват дългосрочни усложнения като загуба на слуха, хронична белодробна болест и интракраниални кръвоизливи.

Смъртността е 16% в терапевтичната група и 15% в контролната група, като между тях липсва статистически значима разлика (p-0.634). Получените резултати не се различават от цитираните в литературата [196].

При анализа на iNO групата по отношение на показателя смъртност се установяват следните особености **(табл. 8)**:

- OI в началото на терапията при тези две деца са едни от най-високите за групата: 70 и съотв. 105
- Единият пациент е с тежка асфиксия при раждане и данни за мекониален аспирационен синдром; впоследствие се доказва и вродена инфекция – Listeria monocytogenes; летален изход настъпи на четвъртия ден след раждането, а причината, потвърдена патоанатомично, е остра бъбречна недостатъчност
- При втория пациент липсва перинатална асфиксия; има анамнеза за гестационен диабет с добър контрол; летален изход настъпи през първите 24 часа, а причината, потвърдена патоанатомично, е идиопатична (първична) белодробна хипертония
- И двете деца са „responders", т.е. и при двете се наблюдава понижение на OI още в първия час след началото на терапията
- При единият пациент понижението на първия час е 15%, т.е. отговорът на терапията е граничен, липсва стойност на OI на 24 час, поради настъпване на летален изход преди този час.

Таблица 8. Летален изход в iNO група

Пациент	**Патология на бременността**	**Перинатална асфиксия**	**Белодробна патология**	**OI при старт на iNO**	**OI на 1-ви час**	**Причина за exitus letalis**
1	Майчина инфекция	да	Белодробен кръвоизлив	105	48	ОБН, сепсис
2	Гестационен диабет	не	МАС, Пневмония	70	60	Първична БХ

OI – оксигенационен индекс; ОБН – остра бъбречна недостатъчност; МАС – мекониален аспирационен синдром, БХ – белодробна хипертония

При анализа на контролната група по отношение на показателя смъртност се установяват следните особености (**табл. 9**):

- OI в началото на апаратната вентилация при две от децата е сравнително нисък; те са с лека и умерена тежест на PPHN; тежка степен на PPHN има само третият пациент
- OI е с тенденция към нарастване в следващите часове, т.е. състоянието на пациентите прогресивно се влошава
- Две от децата са с тежка перинатална асфиксия, а при едното се установява и МАС
- Причината за настъпване на летален изход при две от децата, установена и патоанатомично, е респираторния дистрес синдром и вторично възникналата PPHN; при третото дете основната причина е хипоксично-исхемичната енцефалопатия (ХИЕ)
- И при трите деца от контролната група имаме данни за майчина инфекция преди раждане; една от бременностите е с данни за гестационен диабет.

Таблица 9. Летален изход в контролна група

Пациент	**Патология на бременността**	**Перинатална асфиксия**	**Белодробна патология**	**OI при старт на И.В.**	**OI на 1-ви час**	**Причина за exitus letalis**
1	Тр↓, инфекция	Не	Пневмония	23	35	РДС, PPHN
2	ИУХ, инфекция	Да - остра	РДС	10	15	ХИЕ
3	Хидрамнион, гест.диабет, инфекция	Да - остра	МАС, пневмония	87	92	РДС, PPHN

OI – оксигенационен индекс; И.В. – изкуствена вентилация; Тр↓ - тромбоцитопения; РДС – респираторен дистрес синдром; PPHN – персистираща белодробна хипертония при новороденото; ИУХ – интраутеринна хипотрофия; ХИЕ – хипоксично-исхемична енцефалопатия; МАС – мекониален аспирационен синдром

Обсъждане: Първичната PPHN е причина за настъпване на летален изход при едно от децата от iNO групата, а вторичната белодробна хипертония е патоанатомично потвърдена причина за неблагоприятен изход при две от децата в контролната група. Първична PPHN може да възникне при отсъствие

на паренхимно белодробно заболяване или белодробна хипоплазия в резултат на абнормна маскуларизация на белодробните артериоли. Наблюдава се тежка хипоксемия в резултат на съдовата констрикция. Състояния като полицитемия и хипервискозитет биха могли да повишат белодробното съдово съпротивление и да допринесат за развитие на PPHN при отсъствие на паренхимно заболяване Една от причините за възникване на идиопатична PPHN е констрикция или преждевременно затваряне на дуктус артериозус вътреутробно в резултат на пренатална експозиция на нестероидни противовъзпалителни средства (ибупрофен) [16,51] през третия триместър на бременността. Друга възможна причина е намалена ендогенна продукция на NO [227], намалена бионаличност на NO, както и намалена чувствителност на съдовия ендотел към действието на ендогенни вазодилататори [180]. Идиопатичната PPHN се среща в литературата под името „black lung PPHN", поради характерната рентгенологична снимка: липса на белодробно паренхимно заболяване и беден белодробен съдов рисунък. Хистологичното изследване по време на аутопсия при тези новородени показва ремоделиране на белодробните съдове със значимо задебеляване на съдовата стена и гладко-мускулна хиперплазия, наличие на гладко мускулни клетки в интраацинарните артериоли, което нормално не се среща при здрави новородени деца. В резултат на тези морфологични промени не се осъществява белодробна вазодилатация след раждането и се развива тежка хипоксемия. Подобни патоанатомични промени се наблюдават и при нашия пациент с първична PPHN, а сравнително по-слабият отговор към терапията с iNO е доказателство за липсата на адекватна белодробна вазодилатация, в резултат на описаните морфологични промени.

При останалите пациенти летален изход настъпва в резултат на тежка интрапартална асфиксия, характеризираща се с висока смъртност и дългосрочни неврологични последици. При наличието на тежка ИПА терапията с iNO не би могала да доведе до благоприятен изход, тъй като основният метод на лечение на това заболяване е контролираната хипотермия [114].

Започвайки лечението с iNO предполагахме, че този нов вид терапия ще доведе до намаление на **продължителността на O_2 терапията и продължителността на изкуствената вентилация (И.В.) (табл. 10).**

Таблица 10. Продължителност на И.В. в двете групи

Група		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Дни И.В.	iNO	12	7,3783	3,28929	,94954
	Контрола	20	6,1335	3,63747	,81336

И.В. – изкуствена вентилация; p – 0.340; Mann-Whitney test p – 0.116

От табл. 10 се вижда, че продължителността на апаратната вентилация в iNO групата е по-висока, като при използване на Mann-Whitney test между двете групи има почти статистически значима разлика, поради гранична стойност на p (p-0.116).

При анализа на броя дни, в които се провежда O_2 терапия, не се открива статистически значима разлика между двете групи: за iNO групата средната стойност е 6.4±2.7, а за контролната група 7.1±3.4, **p – 0.457**. Средната продължителност на O_2 терапията в контролната група, за разлика от продължителността на И.В., е по-висока спрямо терапевтичната група.

Обсъждане: По отношения на показателите **продължителност на O_2 терапията и продължителност на изкуствената вентилация (И.В.)** резултатите не се отличават от данните на проведените до момента клинични проучвания [176]. Основният извод е, че iNO не променя краткосрочния изход от заболяването.

Средната продължителност на апаратната вентилация при iNO групата е по-висока. Този факт се обяснява с:

- По-тежкото общо състояние на децата в iNO групата (по-висок стартов OI)
- Продължително лечение с ниска поддържаща доза iNO след настъпила начална стабилизация, поради възможност за развитие на „rebound" ефект

Без да се установява статистически значима разлика между групите, продължителността на O_2 терапията в контролната група е по-голяма, отколкото в iNO групата. Обясняваме този факт с:

- по-бързо начално стабилизиране на състоянието на пациентите (т.е. по-бързо понижение на OI);
- пълно преодоляване на белодробната хипертония, като причина за хипоксемия, дихателна недостатъчност и O_2 терапия.

Този ефект на iNO по отношение на продължителността на O_2 терапията оказва известно положително влияние върху дългосрочния изход от белодробното заболяване.

При анализа на краткосрочния ефект от терапията с iNO от съществено значение е показателят **продължителност на болничния престой (табл.11)**. Важността му се определя от факта, че това е и икономически показател, който дава информация за стойността на лечението. Терапията с iNO е изключително скъпа: в САЩ лечението на ден на едно дете възлиза на около 3000$ и на около 12000$ за 30 дневен период. Съвсем естествено възниква въпросът дали приложението на този толкова скъпо струващ медикамент ще доведе до по-малка продължителност на болничния престой и съответно по-ниска стойност на терапията в неонатологично интензивно отделение.

Таблица 11. Продължителност на болничния престой

Група		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Престой дни	iNO	12	17,2950	8,86201	2,55824
	Контрола	20	16,2235	7,87107	1,76003

p – 0.725; Mann-Whitney test **p – 0.664**

Липсва статистическа значима разлика между двете групи по отношение на показателя **продължителност на болничния престой**. Средната продължителност на болнично лечение в двете групи е около 16-17 дни.

Обсъждане: Резултатите не се отличават от данните, публикувани от редица мащабни проучвания относно ефекта на iNO. Този вид терапията води до повишаване на процента оцелели деца, които се нуждаят от интензивни продължителни грижи. Може да се направи заключението, че лечението с iNO е рентабилно, но не и спестяващо средство [204]. Възможно е по-ранното приложение на iNO при по-ниски стойности на OI и по-стабилно общо състояние на пациентите да доведе до промяна **продължителността на болничния престой** при пациентите с PPHN [27].

iNO не е единственият фактор, който определя успешното повлияване на заболяването. PPHN в 90% от случаите възниква вторично, на фона на паренхимно белодробно заболяване и/или след интрапартална асфиксия. Т.е. изходът се определя от основното заболяване, довело до възникване на PPHN.

Терапията на PPHN е комплексна, изискваща адекватна апаратна вентилация, хемодинамично подпомагане, строг мониторен контрол и добавянето на един нов медикамент не би могло да промени показател като **продължителност на болничния престой**.

Cochrane Database of Systematic Reviews 2017 [42], обхващащ 17 клинични проучвания, които сравняват терапията с iNO и стандартна терапия за PPHN прави следните изводи:

- iNO е безопасен и може да помогне на доносени новородени деца с дихателна недостатъчност, които не отговарят на други методи на подпомагане.
- iNO подобрява оксигенацията и увеличава шанса на новородените да оцелеят без ECMO (високо рисков метод на лечение, с редица странични ефекти и усложнения).
- По време на терапията не се установяват краткосрочни и дългосрочни странични ефекти.

Според Cochrane Database of Systematic Reviews 2017 основният позитивен краткосрочен ефект на iNO е свързан с понижение на необходимостта за про-

веждане на ECMO и съответно понижение на всички рискове за живота на децата, вследствие на този вид инвазивна терапия.

Независимо от продължителността на болничния престой е важно след изписване от неонатално интензивно отделение децата с PPHN да бъдат проследявани дългосрочно, тъй като те имат повишен риск за нарушения в неврологичното развитие и хронични здравословни усложнения.

5. АНАЛИЗ НА ДЪЛГОСРОЧНИЯ ИЗХОД ОТ ТЕРАПИЯТА

Дългосрочният изход при новородени с PPHN зависи от първичното белодробно заболяване и от терапевтичните интервенции, които децата получават след раждане. Неврологични увреждания, включително когнитивни нарушения и загуба на слуха, могат да се наблюдават при 6.4% от оцелелите деца с PPHN [199]. Проблеми с хранителния толеранс и белодробни заболявания се наблюдават при 24% от тези пациенти [199].

При проучване на деца на възраст 18-24 месеца не се доказва повишена честота на неврологични, поведенчески или общомедицински увреждания при пациенти, които са лекувани с iNO за PPHN спрямо контролните групи [221].

Eriksen et al. при дългосрочно проследяване доказват, че при деца, които са лекувани за PPHN при раждане, има по-висока честота на сензороневрална загуба на слуха, хронични здравословни проблеми и нужда от бронходилататорна терапия на възраст 5-10 години в сравнение с контролни групи без PPHN при раждане [75].

Част от пациентите, включени в проучването, са родени преди 37 г.с., поради тази причина се анализира честотата на Бронхопулмонална дисплазия (БПД) в двете групи (**табл.12)**.

Таблица 12. БПД в двете групи

		*БПД		
		Няма	Има	Общо
Група	Контрола	17	**3 (15)**	20
	iNO	10	**2 (16.6)**	12
Общо		27	**5 (15.6)**	32

*Данните са представени като брой и % (в скобите); БПД – бронхопулмонална дисплазия;

p – 0.634

Обсъждане: Липсва статистически значима разлика между двете групи по отношение на този показател – БПД (**p-0.634).** Новородените с установена БПД са с лека степен на заболяването, а общата честота е 15.6%, което не се различава от цитираната честота на белодробни усложнения при децата с PPHN [199]. При дългосрочно проследяване до 12 месечна възраст не се установява по-висока

честота на респираторни заболявания при тези пет деца спрямо останалите пациенти от двете групи. Не се доказва и повишена честота на приложение на бронходилататорна терапия.

По отношение на честотата на БПД при новородени деца с PPHN над 34 г.с. могат да се направят следните изводи:

- Честотата на БПД при деца с PPHN над 34 г.с. е сравнително ниска, тъй като това заболяване се развива при новородени с по-ниски гестационна възраст и тегло при раждане
- Терапията на PPHN (с или без iNO) няма отношение към развитието на БПД
- Дългосрочните белодробни проблеми при деца, които развиват PPHN след раждане, се определят по скоро от вида на първичното белодробно заболяване, а не от терапията на PPHN
- Въпреки че, при проследяване на пациентите до 12 месечна възраст не се откриват разлики по отношение на белодробната заболеваемост спрямо здрави контроли, проучванията, проведени до момента, наблягат на необходимостта за проследяване на тези пациенти поне до училищна възраст [221].

При всички деца от двете групи се проведе трансфонтанелна ехография (ТФЕ) преди изписване от интензивно отделение с оглед анализ на необходимостта от дългосрочно проследяване. При статистическа обработка на данните не се установяват значими разлики между двете групи по отношение на честотата на патологични промени **(табл. 13).**

Таблица 13. ТФЕ в двете групи

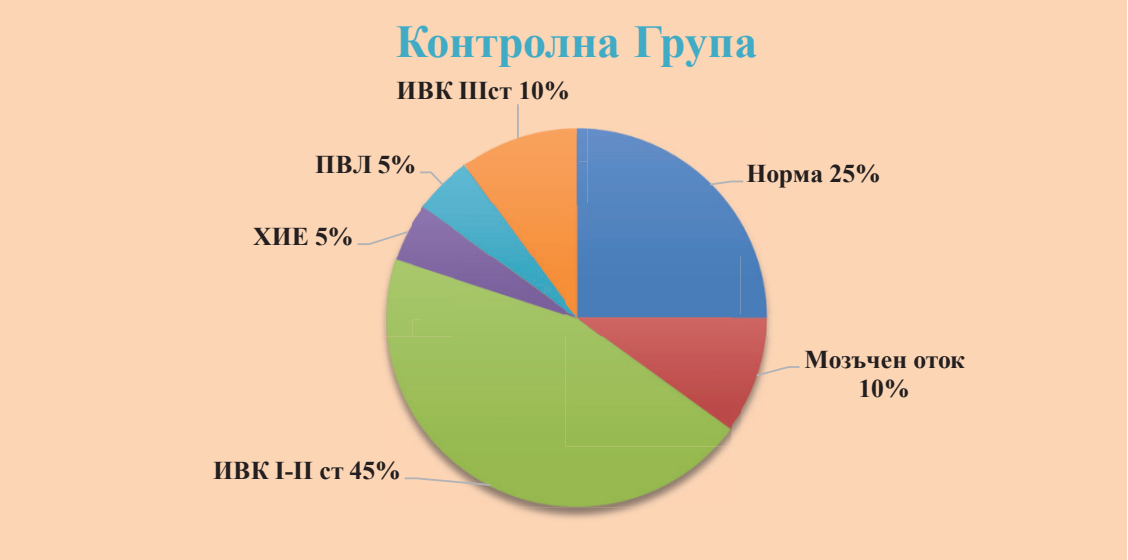
		*ТФЕ		
		норма	патология	Общо
Група	Контрола	5 (25)	15 (75)	20
	iNO	**5 (42)**	**7(48)**	**12**
Общо		10 (31)	22 (69)	32

*Данните са представени като брой и % (в скобите); ТФЕ – трансфонтанелна ехография; **p – 0.438**

Висок процент от пациентите (69% за двете групи) имат промени в ТФЕ. Въпреки че, липсва статистически значима разлика между групите, прави впечатление, че в iNO групата близо половината от децата (42%) имат нормална мозъчна структура при изписване. В контролната група това се наблюдава едва при ¼ от децата (25%). На **фиг.11** и **фиг.12** са представени основните промени в мозъчната структура, установени чрез ТФЕ в двете групи.



Фигура 11. ТФЕ промени в iNO група ИВК - интравентрикуларен кръвоизлив



Фигура 12. ТФЕ промени в контролна група ИВК – интравентрикуларен кръвоизлив; ПВЛ – перивентрикуларна левкомалация; ХИЕ – хипоксично-исхемична енцефалопатия

ИВК I-II степен са най-честата патологична находка, която се наблюдава при пациентите от двете групи (1/3 от пациентите в iNO групата и близо половината от пациентите в контролната група). Този тип патологични промени обикновено не води до нарушения в неврологичното развитие на децата. Мозъчният оток често се наблюдава при наличие на перинатална асфиксия, но само едно дете от контролната група е с данни за хипоксично-исхемична енцефалопатия (при това дете настъпи летален изход на седемнадесетия ден след раждането). Перивентрикуларната левкомалация, посткръвоизливната хидроцефалия и ИВК IV степен са тежки увреждания на мозъчното вещество, които се наблюдават при двама от нашите пациенти.

Обсъждане: Вторично развиващата се PPHN, вследствие на първично белодробно заболяване или перинатална асфиксия, е едно от най-тежко

протичащите заболявания през неонаталния период. Пациентите, особено през първите дни от развитието на заболяването, са хемодинамично нестабилни с чести промени на артериалното налягане и оксигенацията. Поради тези причини засягането на централната нервна система и патологичните промени при ТФЕ се срещат често при пациенти с PPHN.

Нарушения на мозъчния кръвоток лежат в основата на патогенезата на ИВК при доносени новородени деца [157]. Респираторният дистрес синдром и механичната вентилация, които се съпътстват от чести промени в нивото на pCO_2, също могат да допринесат за повишен риск от ИВК при доносени новородени деца, поради смущения на мозъчния кръвен ток. Други предразполагащи фактори за ИВК при доносени деца са промените в артериалното налягане и тромбоцитопенията [15].

При нашите пациенти се наблюдават същите рискови фактори за развитие на мозъчни увреждания. Бързата стабилизация на общото състояние на децата с iNO, както и бързото понижение на OI, имат отношение към преобладаващия брой пациенти в iNO групата с нормална мозъчна структура, без патологични промени при ТФЕ. Именно осигуряването на хемодинамична стабилност предпазва от флуктуации на мозъчния кръвоток и намалява риска за възникване на ИВК и перивентрикуларна левкомалация.

Всички пациенти, преди изписване от неонатално интензивно отделение, се изследват за нарушения на слуха при провеждане на масов неонатален скрининг. Не се регистрират увреждания при пациентите от двете групи.

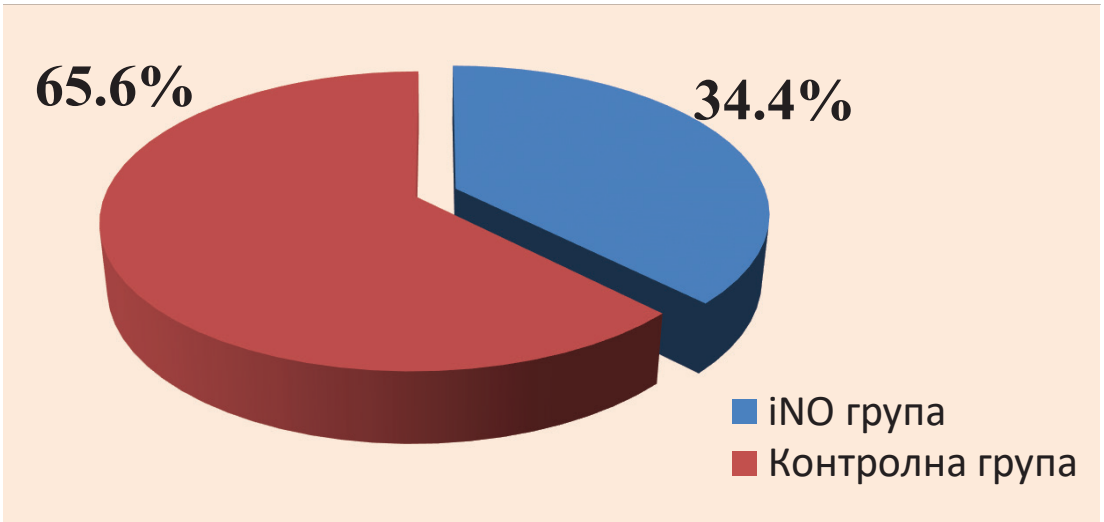
<u>В. НОВОРОДЕНИ ДЕЦА ПОД 30 Г.С. В КРИТИЧНО СЪСТОЯНИЕ</u>

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИЯ КОНТИНГЕНТ ДЕЦА

Изследваният клиничен контингент обхваща **32** новородени деца под 30 г.с. в критично състояние, които провеждат продължително време апаратна вентилация. Провеждането на терапия с iNO е критерий за разпределението на децата в две основни групи (**фиг.13**).

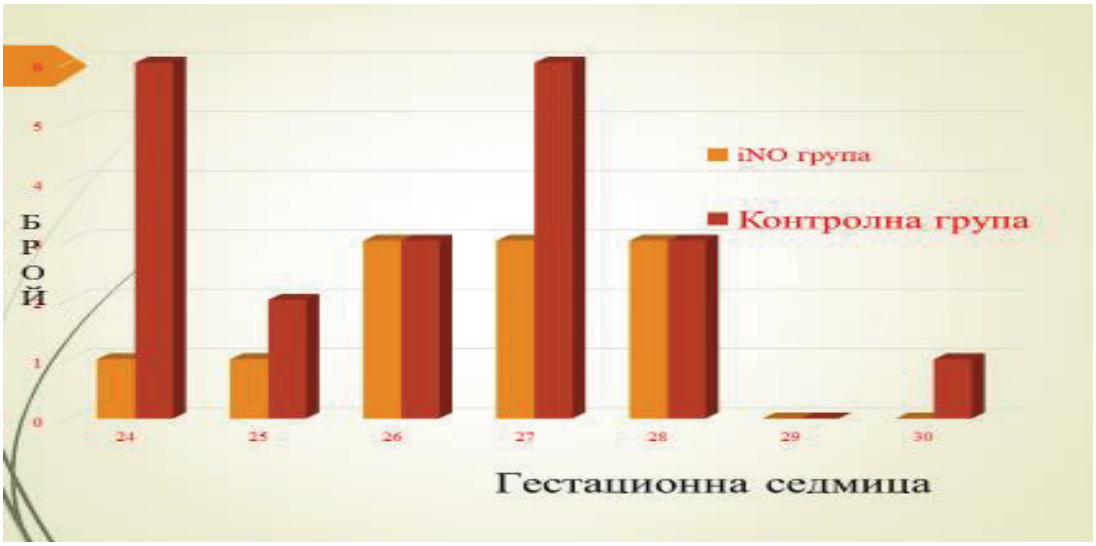
Втора група А (iNO група) – 11 деца (34.4%): Новородени деца с гестационна възраст под 30 г.с. (новородени с екстремно ниско тегло ELBW), при които апаратната вентилация след приложение на екзогенен сърфактант Куросърф продължава повече от една седмица. Терапията с iNO се започва след ехокардиографско изследване за изключване на цианотичен сърдечен порок и сърдечна недостатъчност.

Втора група В (контролна) – 21 деца (65.6%): Проучване на ELBW новородени в критично състояние, които провеждат само оптимална апаратна вентилация след приложение на Сърфактант.



Фигура 13. Процентно разпределение на новородените по групи

По отношение на гестационната възраст не се установява статистически значима разлика между групите: средната гестационна възраст на втора група А е 27±1 седмици, а на контролната група е 26±2 седмици **(фиг.14)**.



Фигура 14. Разпределение на децата според гестационната възраст

По отношение на теглото липсва статистически значима разлика между двете групи: средното тегло на втора група А е 709±202гр, а на контролната група е 699±148гр **(фиг.15)**. Повечето деца от двете групи са с екстремно ниско тегло при раждане (ELBW), като в iNO групата преобладават децата с тегло под 600 гр, а в контролната група с тегло между 700 и 800 гр.



Фигура 15. Разпределение на пациентите в зависимост от теглото при раждане

Основните перинатални характеристики на двете групи новородени деца са представени на **табл.14**.

Таблица 14. Перинатални характеристики на новородените

Характеристика*	iNO гр./ n=11/	Контр. гр. /n=21/	P
Тегло (g)	709 (410-1040)	699 (490-1040)	0.874
Гест. възраст (г.с.)	27 (24-28)	26 (24-30)	0.455
Мъжки пол, n (%)	6 (55)	12 (57)	0.590
ИУХ, n (%)	5 (45)	10 (48)	0.602
Апгар скор, 1 мин.	<5 (1-4)	<5 (1-6)	0.760
Апгар скор, 5 мин.	<7 (3-7)	<7 (1-7)	0.744
pH	7.23 (7.09-7.31)	7.31 (7.10-7.50)	0.026
ППОМ, n(%), олигохидрамнион	2 (18)	10 (48)	0.014
Преeклампсия, HELLP	8 (73)	8 (38)	0.011
Многоплодна бременност	3 (27)	7 (33)	0.628
Майчина инфекция	2 (18)	4 (19)	0.892
Цезарово сечение, n (%)	10 (91)	12 (58)	0.017
КСД проф.	8 (73)	10 (48)	0.266

ИУХ – интраутеринна хипотрофия; ППОМ – преждевременно пукнат околоплоден мехур; HELLP – хемолиза, ↑чернодробни ензими, ↓Тр; КСД - кортикостероиди

* Данните са представени като средна стойност с интервал в скобите или като брой и % (в скобите)

Обсъждане: Пренатални и неонатални фактори са свързани с развитието на Бронхопулмонална дисплазия (БПД). Повишена честота на хроничното белодробно заболяване се асоциира с редица: а)пренатални фактори като: майчина хипертония, хориоамнионит и липса на антенатална кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост; б)неонатални фактори като: тегло, гестационна възраст, Апгар скор (реанимация в родилна зала), продължителна апаратна вентилация, интраутеринна хипотрофия, неонатална инфекция.

Гестационната възраст и теглото при раждане са най-важните рискови фактори, които са свързани с развитието на заболяването. Преди 23 г.с. 100% от оцеляващите деца развиват БПД, докато рискът се понижава до <1% при децата >30 г.с. При пациентите от двете групи **средното тегло** при раждане е 700 гр, а средната гестационна седмица е 26 - 27, т.е. включените деца в проучването имат изключително висок риск за развитие на БПД по отношение на тези два рискови фактора. Преобладаването на пациенти от мъжки пол също е свързано с повишен риск за поява на хронична белодробна болест (p–0.590) **(табл.15)**.

Таблица 15. Разпределение на пациентите по пол

		Пол		
		ж	м	Общо
Група	контрола	9	12	21
	iNO	**5**	**6**	**11**
Общо		14	18	32

Мъжкият пол увеличава риска около 1.13 пъти, а след отчитане влиянието на гестационната седмица и теглото при раждане – около 1.6 пъти, като последният резултат е с гранична статистическа значимост [214]. Shinwell et al доказват в изследване при недоносени деца от двуплодна бременност, че мъжкият пол е свързан с повишен риск за развитие на респираторен дистрес синдром, пневмоторакс и БПД. Въпреки че, точният механизъм, който е отговорен за развитието на БПД, не е напълно изяснен, авторите предполагат наличието на директен интраутеринен паракринен ефект [209].

По отношение на теглото при раждане, гестационната възраст и пола липсва статистически значима разлика между двете групи, т.е. всички пациенти, включени в проучването по отношение на тези перинатални характеристики, имат изключително висок риск за хронични увреждания или летален изход.

Оценката по **Апгар** в голяма степен е повлияна от гестационната възраст и теглото. Апгар скорът на 1 мин се използва като критерий за тежестта на интрапарталната асфиксия. Ниският Апгар скор (≤5) на 5 мин има прогностична стойност по отношение на неврологичните усложнения и се използва като рисков критерий за смърт или трайни неврологични увреждания. Прогностична стойност имат и задържащи се ниски оценки по Апгар след 5 мин.

Недоносените деца, особено тези с екстремно ниско тегло, имат по-ниски оценки по **Апгар** сравнени с деца, които са родени на термин. Пациентите от проучването не правят изключение - на първа и пета минута те имат стойности по-ниски от 7. Липсва статистически значима разлика между двете групи (p-0.760; 0.744). Децата от iNO групата имат статистически значима по-ниска средна стойност на pH от пъпна артерия спрямо контролната група (**p-0.026**). pH е обективен показател, който дава реална представа за нуждата от реанимация при пациентите в родилна зала. Децата от iNO групата имат средна стойност на pH от пъпна артерия 7.23, което обективно показва необходимостта от активна реанимация при тези пациенти, а това е един от най-рисковите фактори за развитие на БПД.

Обсъждане: Връзката между БПД и необходимостта от реанимацията не е напълно изяснена. Скорошно проучване при недоносени деца, които се нуждаят от агресивна реанимация, установява повишен риск от пневмоторакс (26%) и повишен риск за развитие на РДС (82%). Високата честота на пневмоторакс показва директното белодробно увреждане по време на реанимация и това се очаква да доведе до повишена честота на БПД [198].

В последните години все по-често се изследва ефекта на подавания O_2 в родилна зала, което довежда до промяна на протокола за реанимация. Според съвременните препоръки ресусцитацията при недоносените винаги започва с не повече от 30% на подаван O_2. Vento et al доказват, че експозицията на O_2 може да доведе до продължителен оксидативен стрес, което от своя страна нарушава белодробното развитие и повишава риска от БПД [230].

Апгар скорът е обект на редица проучвания в последните години, особено при недоносени деца. Rudiger et al. предлагат използването на Комбиниран–Апгар скор, включващ и неврологична оценка на състоянието на новородените, което дава по-детайлна и сравнително точна оценка на необходимостта от кардиопулмонална реанимация [200, 62]. Авторите стигат до заключението, че Комбинирания-Апгар скор е с по-висока предиктивна стойност по отношение на неонаталния изход, но са необходими още проучвания, които да затвърдят това становище.

В проведеното проучване всички новородени деца се оценяват чрез Конвенционалния-Апгар скор и чрез pH от пъпна артерия в родилна зала. Липсата на неврологична оценка на състоянието, както и липсата на оценка как се променя състоянието по време на реанимация (което стои в основата на Комбинирания-Апгар скор), обяснява и защо всички пациенти имат сравнително ниски оценки на първа и на пета минута, което ги поставя в зоната с висок риск за развитие на хронични усложнения по типа на Бронхопулмоналната дисплазия.

При анализа на перинаталните характеристики прави впечатление високия процент на деца с интраутеринна хипотрофия (**ИУХ**), достигащ близо 50% в две-

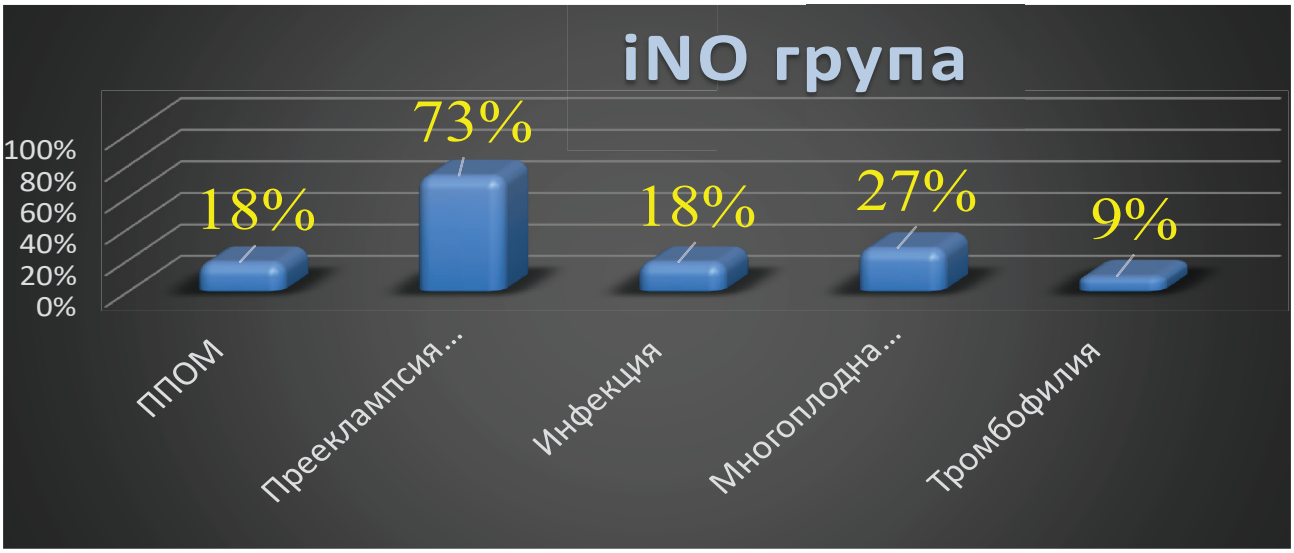
те групи. Статистически значима разлика по отношение на този показател липсва между двете групи (**p-0.602**). Повече от половината от децата с ИУХ са с тегло под 3 персентил за съответната гестационна възраст [79]. Вероятни причини за ИУХ в наблюдаваната популация са: 1. Пренасочване на рисковите бременности с установена ретардация на плода и заплашващо преждевременно раждане към нашия перинатален център; 2. По-лоши социално-икономически условия, спрямо други европейски държави; 3. По-висока честота на непроследявани бременности в сравнение с повечето европейски държави; 4. Висока честота на дву- и триплодни бременности, насочени към нашия перинатален център; 5. По-висока възраст на майките, което е свързано с повече усложнения по време на бременността, като гестационен диабет, прееклампсия, високо артериално налягане, заплашващо преждевременно раждане; 6. По-висок процент на бременности след изкуствено оплождане, което е свързано с повече усложнения по време на бременността и по-висока честота на двуплодна бременност.

Обсъждане: Според редица проучвания ИУХ е един от най-рисковите фактори за развитие на Бронхопулмонална дисплазия при недоносени, преждевременно родени деца. Много голям брой усложнения по време на бременността (майчината съдова болест) биха могли да повлияят развитието на белите дробове и да имат отношение към развитието на БПД. Romero et al изследват различни съдови растежни фактори и доказват, че разликите в профила на проангиогенни и антиангиогенни отговори към вътреутробни инциденти могат да определят дали ще се роди хипотрофично дете, дали майката ще развие прееклампсия, или ще се наблюдават и двете усложнения [197]. Възможно е също майчиният профил на съдови растежни фактори да има отношение към последващото развитие на БПД. Майчини фактори, които нарушават или не подпомагат ангиогенезата могат да доведат до нарушена алвеоларизация и увеличен риск за развитие на БПД.

Недоносени деца с ИУХ имат повишен риск за развитие на белодробна хипертония и тежка форма на БПД в 36 г.с. Този повишен риск най-вероятно се дължи на вътреутробна инхибиция на белодробното развитие в резултат на нутритивна или плацентарна недостатъчност, която довежда до намаление на съдовата мрежа.

Процентът на недоносените деца, включени в проучването, които са с ИУХ е много висок и довежда до сериозни хронични усложнения. Тези деца се нуждаят продължително време от апаратна вентилация и кислородотерапия. При късното проследяване на тези пациентите се установява често посещаване на детски белодробни клиники поради белодробни обструктивни заболявания.

На **фиг.16** и **фиг.17** е представено графично изображение на заболеваемостта по време на бременност при двете изследвани групи новородени. Процентът надхвърля 100, тъй като в повечето случаи има повече от едно заболяване през бременността.



Фигура 16. Патология на бременността при iNO група

ППОМ – преждевременно пукнат околоплоден мехур (+олигохидрамнион);
HELLP – хемолиза, ↑чернодробни ензими, ↓Тр

Преeклампсия и/или HELLP (хемолиза, ↑чернодробни ензими, ↓Тр) е най-често срещаното усложнение на бременността при iNO групата, установява се при 73% от пациентите. Втора по-честота е многоплодната бременност, като причина за преждевременно раждане (27%). Инфекцията и/или ППОМ се срещат с еднаква честота (18%).

В контролната група ППОМ и олигохидрамнион е усложнението, което се среща с най-голяма честота (48%), следван от многоплодната бременност – 33%. Преeклампсията и/или HELLP се наблюдават при 38%, а инфекциите на майката и тромбофилията се срещат с честота съответно 19% и 14%.



Фигура 17. Патология на бременността при Контролна група

ППОМ – преждевременно пукнат околоплоден мехур (+олигохидрамнион);
HELLP – хемолиза, ↑чернодробни ензими, ↓Тр

При сравнителния анализ се установява статистически значима разлика между двете групи по отношение на две от усложненията на бременността. Прееклампсията и/или HELLP се среща с много по-висока честота в iNO групата (**p-0.011**), а ППОМ и олигохидрамнион е със статистически значимо по-висока честота в контролната група (**p-0.014**). По отношение на другите усложнения на бременността липсва значима разлика между двете групи.

При обобщения анализ на патологията на бременността при двете групи прави впечатление, че прееклмпсията и/или HELLP се срещат при половината от всички пациенти (50%). ППОМ и олигохидрамнион е втората по честота патология, която се открива при 38% от бременностите, а 31% от пациентите са родени от многоплодна бременност.

Обсъждане: Проучванията за заболеваемост и смъртност след преждевременно раждане често изследват едновременно няколко рискови фактора или включват прееклампсията към съдовите заболявания по време на бременност, без да се проучва отделно нейния ефект. Само няколко проучвания анализират изходът при новородени на майки с **прееклампсия**, но нито едно не проучва честотата и тежестта на БПД в 36 г.с. при тези деца.

Weiler J et al откриват повишен риск от фетална и неонатална смъртност при рождено тегло под 10th персентил, но не доказват други разлики при неонаталния изход [238]. Eriksson et al, в голямо ретроспективно кохортно проучване в Швеция, включващо преждевременно родени деца преди 37 г.с., откриват силна връзка между прееклампсия-свързаните нарушения и БПД, но не изследват корелацията на тази връзка с гестационната седмица [77]. Италианско, кохортно изследване, включващо 2085 новородени деца между 23 и 31 г.с. подчертава по-високия риск от БПД за деца, които се раждат от бременности с проблеми на плацентата или с различна инфекциозна патология [87]. Нито едно от тези проучвания не търси връзка с теглото при раждане.

Обощено, едва няколко проучвания анализират риска за развитие на БПД при деца с интраутеринна хипотрофия (ИУХ), вземайки под внимание съдовите нарушения по време на бременност и особено прееклампсията. Резултатите често се различават в зависимост от протоколите за провеждане на проучванията.

Рискът за развитие на БПД е доказано по-висок при новородени от бременности със съдови нарушения и тегло на новородените под 10th персентил в MOSAIC кохортното проучване, но по-висок риск се наблюдава и при новородени с ИУХ, чиито майки нямат съдови нарушения [246]. В проучване на Durrmeyer et al, недоносени новородени деца с тегло под 3-ти персентил, родени от бременности на майки със съдови заболявания, имат по-висок риск за развитие на БПД [71]. Проспективно проучване на Hansen et al доказва, че прееклампсията е рисков фактор за развитие на БПД с OR 2.96 в популация на недоносени новородени деца със средна възраст при раждане 29 г.с. [103], докато Yen et al не откриват

връзка между преeклампсията и риска от развитие на БПД [242]. Soliman et al също не доказват връзка между преeклампсията и БПД при недоносени деца под 32 г.с. [212].

Интраутеринната хипотрофия е описана в множество проучвания като рисков фактор с голямо значение при развитието на БПД. Една от основните етиологични причини за поява на ИУХ е преeклампсията, която се среща с честота между 2% и 8%. Има няколко възможни причини преeклампсията да бъде рисков фактор за развитие на хроничното белодробно заболяване. Първо, този тип патологична бременност често води до ИУХ и преждевременно раждане, тъй като родоразрешението е единственото лечение на това усложнение. Също така, самата преeклампсия би могла да индуцира развитие на БПД, тъй като в основата на патогенезата й стои липсата на баланс между про- и антиангиогенни фактори, което се предава и на плода и би могло да наруши съдовото и алвеоларното развитие на феталните бели дробове [233].

В проведеното проучване 50% от децата са родени от патологична бременност, протекла с преeклампсия и всички те са с ИУХ. Съчетанието на двата рискови фактора увеличава риска за развитие на БПД и белодробна хипертония, като този резултат не се различава от резултатите на проведените до този момент клинични проучвания. Тези данни ни дават основание да приемем преждевременно родените деца с ИУХ от бременности, протекли с преeклампсия, като една от най-рисковите групи за развитие на БПД, особено тежка форма на заболяването, и да таргетираме тази популация за бъдещи терапевтични изследвания. Често недоносени новородени деца с ИУХ са изключвани от терапевтични проучвания, поради статистически по-висока честота на усложнения и смъртност при тях [43].

При анализ на патологията на бременността при двете групи от съществено значение е наличието на **ППОМ и олигохидрамнион**. В контролната група тези майчини заболявания са с водеща честота - 48%, докато в iNO групата те се срещат при 18% от бременностите. По отношение на това усложнение на бременността се установява статистически значима разлика между двете групи (p-0.014). ППОМ в съчетание с олигохидрамнион се установява при 38% от включените в проучването пациенти, като това усложенение на бременността е второ по честота след преeклампсията и/или HELLP (50%) като причина за преждевременно раждане и развитие на хронични усложнения при екстремно недоносените деца.

Обсъждане: ППОМ е усложнение, което се наблюдава при 30% от преждевремените раждания, което е съпоставимо с честотата в нашето проучване (38%). Новородени с анамнеза за ППОМ и олигохидрамнион са с повишен риск за развитие на белодробна хипоплазия. В проспективно проучване при новородени с ППОМ преди 25 г.с. с тежък олигохидрамнион за >14 дни се установява риск от летален изход >90%. Възможна опция за лечение при тези високо рискови деца е iNO [58]. Тяхното състояние би могло да се подобри благодарение на белодробния

вазодилататив ефект на iNO, поради предполагаема белодробна хипоплазия и свързана с нея белодробна хипертония. При ретроспективен анализ се установява, че ППОМ, олигохидрамнион и белодробна хипоплазия при недоносени деца са независими рискови фактори за развитие на белодробна хипертония. Няколко клинични случая също показват, че тези новородени биха могли да имат добър отговор на терапията с iNO с понижение на оксигенационния индекс, но също така установяват повишен риск от развитие на интравентрикуларни кръвоизливи.

При подгрупата недоносени с ППОМ и олигохидрамнион би могъл да се очаква по-добър ефект, поради азотен окис-чувствителната белодробна хипертония, както и поради положителния ефект на медикамента върху белодробния паренхим, въздухоносните пътища и белодробните съдове. Приложението на iNO в тази специфична група недоносени новородени деца следва да бъде проучено в проспективни проучвания, които да установяват потенциалните положителни и негативни ефекти на тази терапия. Това е причината и за включване на недоносени деца с ППОМ и олигохидрамнион в нашето проучване. От една страна този контингент от деца е един от най-застрашените за развитие на БПД и белодробна хипертония (БХ), от друга страна е най-висока вероятността тази група деца да се повлияе от терапия с iNO.

При анализа на метода на родоразрешение - 69% от включените в проучването пациенти са родени по оперативен механизъм. Между двете групи се установява статистически значима разлика (p-0.017), като в iNO групата 91% от децата са родоразрешени чрез **цезарово сечение**, а в контролната група този процент е 58%. Считаме, че тази разлика между двете групи се дължи на разликите в преобладаващата патология на бременността при iNO и контролната група.

Повечето деца в iNO групата са родени от бременности, които протичат с прееклампсия и/или HELLP синдром (73%) - животозастрашаващи състояния за майката, при които се провежда спешно цезарово сечение.

Преобладаващата част от децата в контролната група са родени от бременности, които протичат с ППОМ и олигохидрамнион (48%). Обикновено те се раждат по нормален механизъм след завършване на кортикостероидната профилактика за белодробна зрялост и преустановяване на токолитичната терапия.

Обсъждане: Елективното цезарово сечение при жени със заплашващо преждевременно раждане би могло да намали вероятността за фетална или неонатална смърт, но също така би могло да увеличи риска от майчина заболеваемост. Данните от клинични проучвания до този момент са недостатъчни за да може да се направят необходимите заключения за изхода при новородените недоносени деца. Клиничните препоръки са, че недоносеността не би трябвало да бъде единствена индикация за оперативно родоразрешение.

Анализът на наличието на **кортикостероидна профилактика (КСП)** на белодробна зрялост при жени със заплашващо преждевременно раждане е изключително важен. На таблица 16 са представени данните за включените в проучването пациенти.

Таблица 16. Кортикостероидна профилактика на белодробна зрялост

		*КСП		
		No	Yes	Общо
Група	контрола	11(52)	10(48)	21
	iNO	**3(27)**	**8(73)**	**11**
Общо		14(44)	18(56)	32

*Данните са представени като брой и % (в скобите); КСП – кортикостероидна профилактика; **p – 0.266**

КСП е проведена при повече от половината от включените в проучването недоносени деца (56%). В контролната група близо половината от пациентите (48%) са родени след проведена КСП. В iNO групата този процент е доста по-висок (73%). Въпреки това, между двете групи не се открива статистически значима разлика по отношение на показателя **наличие на КСП** преди раждане (**p – 0.266**).

По-високия процент на недоносени пациенти, родени след КСП в iNO групата вероятно е резултат от следните причини: 1. Водещата патология на бременността в iNO групата е преeклампсия (73%), т.е. тези пациентки имат болничен престой преди раждане с оглед на стабилизиране на състоянието, а това предполага и провеждане на КСП. 2. Водещата патология на бременността в контролната група е ППОМ (48%), а при тези пациентки преждевременното раждане обикновено настъпва преди да има достатъчно време за провеждане на пълния курс кортикостероиди.

Обсъждане: Според съвременните протоколи за реанимация и лечение на недоносени деца антенаталните кортикостероиди ускоряват развитието на феталните бели дробове, чрез увеличаване на активността на ензимите, които са отговорни за биосинтеза на сърфактант, а това подобрява белодробната механика. Майчината антенатална КСП увеличава шансовете за оцеляване на недоносените деца и намалява риска за настъпване на мозъчни увреждания. Лечение проведено между 1 и 7 дни преди раждането намалява честотата на РДС, но според редици проучвания честотата на БПД дори нараства. Това се дължи на инхибирането на алвеоларизацията и васкуларизация, дължащо се на повишена експресия на съдов ендотелен растежен фактор (VEGF), след приложение на кортикостероиди. Най–рискова група недоносени деца за развитие на БПД са децата на майки с хориоамнионит, при които е проведена пренатална профилактика за РДС. Тези съвременни данни налагат промени в протоколите за пренатални КСД – не се провежда повече от един курс на лечение.

При субгрупов анализ на пациентите, включени в проучването, установяваме, че при 33% е проведен повече от един курс на лечение с кортикостероиди преди раждането. При нито един от тях няма данни за майчина инфекция (хориоамнионит). Нашите данни не се различават от цитираните в литературата по отношение на честотата на провеждане на КСП.

Антенаталните кортикостероиди понижават честотата и тежестта на Респираторния дистрес синдром (ХМБ), други неонатални заболявания, както и неонаталната смъртност. Тяхната роля при намаляване честотата на БПД е противоречива, но понижавайки влиянието на класически рискови фактори като изкуствената вентилация, постнаталните инфекции и Персистиращия артериален канал, те биха могли да имат позитивен ефект върху честотата и тежестта на БПД [194].

2. АНАЛИЗ НА ТЕРАПЕВТИЧНИЯ ЕФЕКТ НА iNO ПРИ НЕДОНОСЕНИ ДЕЦА

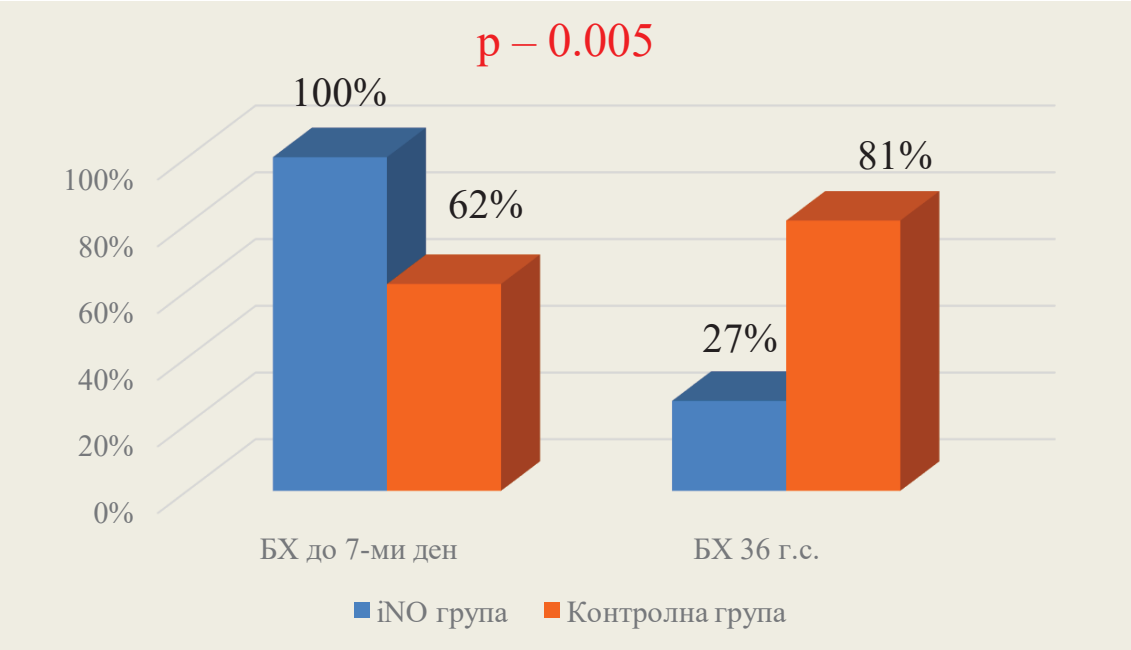
2.1. Анализ на ефекта на iNO при недоносени деца с Белодробна хипертония

Белодробната хипертония (БХ) е често срещано заболяване при недоносените деца. Множество рискови фактори, като екстремната незрялост и интраутеринната хипотрофия, са обсъждани като причина за нейното възникване. Точните патофизиологични механизми не са напълно изяснени, но се смята, че БХ възниква в резултат на физиологична незрялост на сигналния път на NO, както и на нарушено развитие и ексцесивна маскуларизация на белодробните съдове. Тази теория дава основание на редица изследователи да анализират терапевтичния ефект на iNO (като форма на заместителна терапия) за превенция и лечение на БХ при недоносените деца.

Диагнозата БХ се поставя чрез ехокардиографско изследване, но липсва консенсус за времето на провеждане му като скринингов метод за ранно откриване на заболяването. При част от недоносените деца заболяването се открива в ранния неонатален период (първите 2 седмици от живота), като тази форма се нарича „ранна БХ". Често нейната поява влошава клиничното протичане на ХМБ и се асоциира с повишен риск за развитие на тежка БПД.

Диагнозата на т.нар. „късна БХ" обикновено се поставя в 36 г.с. При голяма част от недоносените деца, особено тези родени с тегло <1000гр, БХ се изявява като усложнение на вече установена БПД (БХ имат около 17% от децата с БПД и близо ¼ от децата с тежка БПД). БХ може да имат също така и новородени недоносени деца без БПД. Тъй като установяването на БХ, независимо дали е „ранна" или „късна", сигнификантно повишава заболеваемостта и смъртността при недоносените с БПД, е възможно ранното лечение с белодробни вазодилататори да подобри изходът от заболяването.

Всички тези данни дават основание да се проведе двукратно ехокардиографско изследване при включените в проучването пациенти. Първоначалната оценка за наличие на БХ се проведе в рамките на първите две седмици след раждането, за да може да се установи наличието на „ранна" белодробна хипертония. Второто изследване за установяване на „късна" БХ се осъществи в 36 г.с. при всички включени в проучването пациенти, независимо от наличието и тежестта на БПД **(фиг. 18)**.



Фигура 18. Ехокардиографски установена БХ в двете групи

БХ – белодробна хипертония

В iNO групата при 100% от децата се установява наличие на „ранна БХ" при ехокардиографията, която е проведена в рамките на първите седем дни след раждането. 18% от пациентите са с ППОМ, завършена кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост и хипоксична дихателна недостатъчност, т.е. групата на недоносени деца, при които се очаква най-добър ефект от приложението на белодробни вазодилататори.

В контролната група „ранна БХ" се открива при 62% от децата, като 54% от тях са с ППОМ, завършен курс на пренатална кортикостероидна профилактика и хипоксична дихателна недостатъчност (т.е. групата недоносени деца, при които е най-вероятно да има ефект от приложението на iNO). При 29% от новородените в контролната група първото ехокардиографско изследване установява наличие на Персистиращ артериален канак (ПАК), който впоследствие е затворен меди-каментозно, а 9% от децата са с нормална ехокардиография.

Наличието на „ранна БХ" при всички деца от iNO групата е лош предиктивен белег за развитие на „късна БХ" и БПД. Започването на терапия с iNO в тази група пациенти, с оглед превенция на късните усложнения, е напълно оправдано.

В 36 г.с. данните от ехокардиографията показват съвсем различна информация. „Късна БХ" се установява при едва 27% от децата в iNO групата, т.е. има 73% спадане на заболеваемостта. При субгрупов анализ се установява, че тези 27% са от мъжки пол, <26 г.с. и родени от бременности, протекли с тежка преeклампсия и интраутеринна хипотрофия.

„Късна БХ" в контролната група се доказва при 81% от пациентите, като се отчита нарастване спрямо ранния скрининг (62%). Всички пациенти, които са диагностицирани с „ранна БХ" имат и ехокардиографски данни за „късна БХ". 19% от децата, които имат ПАК при ранен скрининг са с установена „късна БХ" при изследването в 36 г.с. Пациентите, които имат нормална ехокардиографска находка на 7-ми ден след раждането, не развиват БХ в 36 г.с. При субгрупов анализ се установява, че пациентите, които нямат БХ в 36 г.с. са без данни за интраутеринна хипотрофия и при нито един от тези пациенти не е проведена кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост.

Разликата между двете групи по отношение на „късната БХ" е статистически значима: p – 0.005. Този резултат е с изключително висока стойност, тъй като показва, че приложението на iNO при високо рискови екстремно недоносени деца с „ранна БХ" води до отчетливо понижение на честотата на БХ в 36 г.с., а това е свързано с намаляване на риска за развитие на дългосрочни белодробни увреждания, които неминуемо съпътстват БХ.

„Късната БХ" е най-честото съпътстващо усложнение на вече развила се БПД. Честотата на заболяването нараства с нарастване на тежестта на БПД. Това е повод да се анализира връзката между двете заболявания при пациентите от двете групи с доказана ехокардиографски БХ в 36 г.с. **(табл. 17).**

Таблица 17. Честота и тежест на БПД, при пациентите с БХ

	/-/БПД	Лека БПД	Умерена БПД	Тежка БПД
***БХ iNO група**				3(100)
***БХ контр. група**	2(12)		4(23)	11(65)

*Данните са представени като брой и % (в скобите); БПД – бронхо-пулмонална дисплазия; БХ – белодробна хипертония

Тежка БПД се установява при 100% от пациентите в iNO групата с доказана БХ в 36 г.с. Всички деца, при които липсва ефект на iNO по отношение на БХ са с тежка форма на Хронично белодробно увреждане.

В контролната група резултатите са по-различни. Най-висок е процентът на децата с тежка форма на БПД (65%), следван от пациентите с умерена степен на БПД (23%). В контролната група 12% от децата с „късна БХ" нямат БПД в 36 г.с.

Обсъждане: Получените резултати доказват високата честота на БПД–асоциираната БХ, както и положителния ефект на белодробния вазодилататор iNO, приложен при недоносени деца с БХ и хипоксична дихателна недостатъчност.

Децата, включени в проучването, попадат в групата на най-рисковите пациенти за развитие на БХ – те са екстремно недоносени, с интраутеринна хипотрофия, родени от патологично протекли бременности (ППОМ и тежка преeклампсия). По отношение на рисковите фактори нашите данни не се различават от описаните до момента в литературата [19, 206].

Пациентите с БПД имат 3 пъти по-висок риск за развитие на БХ, сравнени с тези без БПД. В същото време появата на БХ променя хода и прогнозата на БПД, като БХ най-често се асоциира с умерена или тежка степен на БПД [18]. Подобна връзка установяваме и в нашето проучване. Тежка или умерена степен на БПД имат 90% от пациентите с БХ в двете групи, а едва 10% имат БХ без съпътстваща БПД.

Според редица автори съществува пряка връзка между ехокардиографските параметри за белодробна съдова болест, установени на 7-ми постнатален ден, и развитието на „късна БХ" и/или БПД. Въпреки това липсва единен консенсус във връзка с най-подходящото време за осъществяване на ехокардиография, с оглед скрининг за БХ.

Считаме, че Белодробната хипертония влошава състоянието на новородените и е лош прогностичен белег, който има следните основни характеристики:

1. БХ се установява чрез ехокардиография при 42% от недоносените на 7-ми ден след раждането и при 17% на 36 г.с.

2. Симптоми на белодробна съдова болест на 7-ми ден са предиктивен фактор за БПД и късна БХ.

3. Късна БХ се среща при над 30% от децата с тежка БПД, но и при 10% от децата без БПД или с лека и умерена форма на заболяването.

4. Късната БХ е свързана с по-продължителна апаратна вентилация и О2 терапия, както и с по-лоша дихателна функция в ранното детство.

Поради тези причини е удачно въвеждане на скрининг за ранна белодробна хипертония на 7-ми ден при следните рискови групи деца:

- Екстремно незрели деца, родени преди 26 г.с.
- Новородени с ИУХ (интраутеринна хипотрофия) и деца на майки с преeклампсия.
- Недоносени новородени деца на майки с ППОМ.
- Новородени, нуждаещи се от продължително апаратно подпомагане.
- Новородени с високи О2 нужди, нарушен растеж, хипоксемични кризи.

Удачно е въвеждане на задължителен скрининг в 36 г.с. за късна белодробна хипертония при:

- Всички деца с БПД, независимо от тежестта на заболяването.

Положителният ефект на iNO по отношение на БХ при недоносените деца е безспорен. Нашите резултати показват повлияване на заболяването при 63% от децата в терапевтичната група, както и статистически значима разлика спрямо недоносените новородени в контролната група. Субгруповият ни анализ показва, че децата, които се повлияват от терапията, имат следните характеристики:

- Гестационна възраст > 26 г.с.
- Женски пол.
- Ехокардиография, проведена в първите 2 седмици след раждането, с данни за наличие на БХ.
- Недоносени деца без съпътстваща Интраутеринна хипотрофия (ИУХ) и без анамнестични данни за прееклампсия при майката.
- Недоносени новородени от бременности, протекли с ППОМ.
- Завършен само един курс на лечение с антенатални кортикостероиди.

В ерата на съвременната прецизна медицина е от съществено значение да се отдиференцира популацията на недоносените деца с критична хипоксична дихателна недостатъчност, които биха се подобрили от лечение с iNO [31].

Лечението на БПД – асоцииранатa БХ е дискутабилно, без да има ясни протоколи при кои деца и най-вече кога да се прилага лечение. Въпреки масовото приложение на iNO при различни групи недоносени деца, неговото приложение при новородени <34 г.с. все още е "off label". Някои недоносени деца с ППОМ и пренатална кортикостероидна профилактика (т.нар. 4-та група недоносени, при която се прилага iNO) с тежка хипоксемия, в резултат на PPHN, имат същия позитивен отговор към терапията с iNO, както и доносените деца с PPHN. Именно тази група недоносени е най-вероятно да се повлияе от терапия с белодробния вазодилататор през първите 28 дни от живота [131].

Възможно е ППОМ да индуцира транзиторен дефект в синтезата на NO и по този начин да спомага за развитието на БХ. Терапията с iNO преодолява този проблем, но същевременно засяга белодробното узряване. Наскоро American Heart Association и American Thoracic Society в педиатричните БХ протоколи отбеляза [10]: „iNO може да има позитивен ефект при недоносени деца с тежка хипоксемия, дължаща се по–скоро на PPHN–физиология, отколкото на паренхимно белодробно заболяване, особено ако хипоксемията е свързана с ППОМ и олигохидрамнион".

Считаме, че положителният ефект на iNO, който отчитаме, се дължи най-вече на ранното приложение (в рамките на първите 7-10 дни след раждане) на медикамента, както и на приложението му при група от недоносени деца, които според наличните до този момент резултати от клинични проучвания, е най-вероятно да се повлияят от вазодилататативната терапия.

2.2. Анализ на краткосрочния изход от терапията с iNO при недоносени деца

За оценка на ефекта от приложението на iNO при недоносени деца е важно да се проучи дали този вид терапия променя продължителността на апаратната вентилация, броя дни на кислородотерапия, продължителността на болничния престой, както и честотата на летален изход. Още първите проучвания върху iNO търсят отговор на тези въпроси [60,139]. Резултатите до този момент показват, че липсва статистически значима разлика по отношение на продължителността на болничния престой, дните на кислородотерапия и апаратна вентилация между групите, провеждащи iNO терапия и контролните групи. На **табл.18** са представени обобщено данните за краткосрочния изход от терапията при двете групи недоносени деца.

Характеристика*	iNO гр. n=11	Контр. гр. n=21	P
Смърт, n(%)	2 (18)	3 (14)	1.000
Болничен престой (дни)	107±31	108±48	0.961
И.В. (дни)	68±37	39±22	**0.037**
O_2 (дни)	25±11	72±18	**0.000**

Таблица 18. Анализ на краткосрочния изход от терапията

И.В. – изкуствена вентилация; O_2 – кислородотерапия;

* Данните са представени като средна стойност с интервал или като брой и % (в скобите)

По отношение на **леталния изход** не се откриват статистически значими разлики между двете групи. Смъртността в терапевтичната група е 18%, а в контролната 14%, а p – 1.000 по отношение на този показател.

При анализ на основните характеристики на починалите деца в iNO–групата установяваме следните особености:

- Тежко, патологично протекли бременности на майките–тежки форми на прееклампсия и тромбофилия; едно дете от двуплодна бременност.
- Кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост – 100%.
- Интраутеринна хипотрофия, при едно от децата теглото е под петия персентил.
- Интрапартална асфиксия при раждане, едно от децата е с Апгар 1 на първа минута и pH<7.
- Диагностицирана Белодробна хипертония до 7-ми ден след раждането.
- Продължителна апаратна вентилация; най-високи стойности по отношение на този показател от всички деца от двете групи.
- Тежка форма на БПД в 36 г.с.
- Патоанатомична причина за настъпване на летален изход - БПД и съпътстваща пневмония.

При анализ на основните характеристики на починалите деца в контролната група се установяват следните особености:

- Данни за ППОМ и майчино-фетална инфекция; едно дете от двуплодна бременност.
- Кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост – 33%.
- Интраутеринна хипотрофия в 33%, две от децата – екстремно незрели: 24 г.с.
- Интрапартална асфиксия при раждане.
- Диагностицирана Белодробна хипертония в 66% от случаите.
- Настъпил летален изход преди 28-ми ден и съответно преди възможност за поставяне на диагноза БПД.
- Патоанатомична причина за настъпване на летален изход различна от БПД – ИВК IV степен, РДС, сепсис.

Обсъждане: Според редица литературни източници „off-label" приложението на iNO при различни групи недоносени деца продължава и има тенденции за повишаване на неговото използване [84,74]. Този факт се обяснява със стремежа на неонатолозите да открият възможност за повишаване на преживяемостта на екстремно незрелите деца с минимални дългосрочни увреждания.

В литературата, както и в нашето проучване, iNO не понижава смъртността в тази група пациенти. Това се дължи на факта, че преживяемостта на екстремно недоносените деца се определя в най-висока степен от следните фактори:

- Гестационна възраст и тегло при раждане, липса на интраутеринна хипотрофия
- Наличие на кортикостероидна профилактика
- Липса на перинатална асфиксия
- Провеждане на адекватна реанимация в родилна зала
- Минимална инвазивност в първите дни след раждането.

Прави впечатление наличието на разлика между двете групи по отношение на заболяването, установено патоанатомично като причина за настъпване на летален изход. В терапевтичната група децата загиват след няколко месеца с клиника на тежка, вентилаторно зависима БПД. В контролната група леталният изход настъпва в рамките на първите дни след раждането, като причината е хемодинамична нестабилност, настъпила в резултат на сепсис или РДС. Можем да предположим, че прилагането на iNO в този период допринася за стабилизиране на хемодинамиката и съответно намалява шанса за настъпване на летален изход. Нашето проучване е лимитирано поради малкия брой пациенти да установи такъв ефект, но и редица големи рандомизирани проучвания не успяват да докажат, че медикамента понижава смъртността при недоносените деца.

При анализа на краткосрочния ефект от терапията с iNO при недоносени деца от съществено значение е показателя **продължителност на болничния престой**. Това е икономически показател, който дава информация за стойността на лечението. Терапията с iNO е изключително скъпа: в САЩ лечението на ден на едно дете възлиза на около 3000$ и на около 12000$ за 30 дневен период. Тъй като при недоносени деца лечението с iNO е значимо по-дълго, съответно престоят при тях отчетливо се оскъпява. Съвсем естествено възниква въпросът дали приложението на този толкова скъпо струващ медикамент ще доведе до по-малка продължителност на болничния престой и съответно по-ниска стойност на терапията в неонатологично интензивно отделение **(табл.19)**.

Таблица 19. Продължителност на болничния престой

Група		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Престой/Дни	**iNO**	**11**	**107.455**	**31.2037**	**9.4083**
	Контрола	21	108.238	48.0395	10.4831

p – 0.961; Mann-Whitney test **p – 0.405**

Средната продължителност на болничния престой в двете групи е над 3 месеца. Липсва статистически значима разлика по отношение на този показател между групите. Нашите резултати не се различават от цитираните в литературата

[139]. При анализ на перинаталните данни и заболеваемост на новородените в двете групи установяваме следните особености при пациентите с най-дълъг престой в интензивно отделение:

- Гестационна възраст ≤ 27 г.с.
- Тегло при раждане ≤ 800 гр.
- Липса или непълна кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост
- Наличие на ИУХ и перинатална асфиксия
- Ехокардиографски установена БХ в първите 7 дни след раждането
- Наличие на късни усложнения: тежка степен на БПД, късна БХ, ретинопатия, неврологични увреждания.

Обсъждане: Лечението на екстремно недоносени деца в Интензивните неонатални отделения е едно от най-продължителните и скъпоструващи. Този контингент пациенти се характеризира с редица особености и проблеми, произтичащи най-вече от екстремната незрялост на всички органи и системи, както и от пълната липса на подготовка за извънутробен начин на живот. Добавянето на един нов медикамент към общия терапевтичен план не може да доведе до съществена промяна на такъв комплексен показател като **продължителност на болничния престой**.

Този вид терапията води до повишаване на процента оцелели деца, които се нуждаят от интензивни продължителни грижи. В заключение може да се каже, че лечението с iNO е рентабилно, но не и спестяващо средство. Zupancic JA1 et al [248] правят икономическа оценка на терапията с iNO при недоносени деца и стигат до следните изводи:

- Въпреки релативно по-високата цена на терапията с iNO спрямо други неонатални терапии, приложението на медикамента не води до по-висока цена на грижите, тъй като тя се определя в най-висока степен от продължителността на апаратната вентилация и болничния престой.
- На практика при новородени, които започват терапия между 7 и 14 ден от живота стойността на болничното лечение е по-ниска, поради намалена честота на дългосрочни увреждания.

В настоящото проучване не е оценена икономическата ефективност на проведената терапия. Безспорен факт е, че въпреки липсващата разлика в болничния престой при двете групи пациенти, оцелелите деца в iNO групата имат по-лека степен на хронични усложнения.Това би следвало да доведе до по-ниска стойност на цялостното болнично лечение, независимо от приложението на скъпоструваща терапия.

При анализа на краткосрочния изход от терапията от съществено значение е оценката на показателя продължителност на изкуствената вентилация (И.В.). При недоносени деца под 30 г.с. понижението на периода, в който децата провеждат И.В., е свързано с намаляване на честотата и тежестта на хроничните увреждания – БПД, ретинопатия и неврологични усложнения **(табл. 20)**.

Таблица 20. Продължителност на И.В. в групите под 30 г.с.

Група		**N**	**Mean**	**Std. Deviation**	**Std. Error Mean**
Дни И.В.	iNO	11	68.000	37.3818	11.2710
	контрола	21	39.667	21.8823	4.7751

И.В. – изкуствена вентилация; **p – 0.037**; Mann-Whitney test **p – 0.023**

Средната продължителност на И.В. е висока за двете групи – средно 68 дни за iNO–групата и 40 дни за контролната група. Спрямо този показател се открива статистически значима разлика между двете групи, като И.В. е по-кратка в контролната група.

При анализ на основните перинатални данни и заболеваемост се установяват следните особеност при пациентите с най-продължителна И.В.:

- Гестационна възраст ≤ 27 г.с.
- Тегло при раждане ≤ 800 гр.
- Липса или непълна кортикостероидна профилактика за белодробна зрялост
- Наличие на ИУХ и перинатална асфиксия
- Ехокардиографски установена БХ в първите 7 дни след раждането
- Наличие на късни усложнения: тежка степен на БПД, късна БХ, ретинопатия, неврологични увреждания.

Обсъждане: Тези характеристики на новородените с най-продължителна И.В. напълно се припокриват с описаните особеноности на пациентите с най-дълъг престой в Интензивно отделение. Нашите резултати не се различават от описаните в литература [248], според които престоят в Интезивно отделение зависи в най-висока степен от продължителността на провежданата апаратна вентилация.

Статистически значимо по-продължителната И.В. при пациентите в iNO–групата е фактор с неблагоприятен ефект по отношение на дългосрочната прогноза при тази група недоносени деца. Считаме, че тази разлика между двете групи се дължи на следните фактори:

- Протоколът за провеждане на терапия с iNO при недоносени деца, който предполага продължително лечение (средно 21 дни) по време на което пациентите са на И.В.
- По-тежка степен на интрапартална асфиксия на децата в iNO-групата с наличие на статистически значима разлика между групите по отношение на стойността на pH от пъпна артерия (p – 0.026). ИПА довежда до развитие на по-тежка степен на РДС, което от своя страна предполага и по-продължителна И.В.
- Диагностицираната ехокардиографски БХ в първите 7 дни след раждането и наличие на статистически значима разлика между двете групи (100% от децата в iNO–групата са с ранна БХ, докато в контролната група този процент е 62%). Ранната БХ е усложнение на основното заболяване (РДС), което предполага и провеждането на по-продължителна И.В. при тази група пациенти.
- Приложението на iNO води до стабилизиране на хемодимаиката, особено при екстремно недоносени деца, които в първите дни от живота са с клиника на PPHN, характерна за доносените деца. Хемодинамичната стабилност предполага намаляване на шанса за настъпване на летален изход при екстремно недоносени деца в критично общо състояние. Именно тази група деца впоследствие провежда продължителна апаратна вентилация, най-често поради настъпили хронични усложнения – тежка степен на БПД.

Нашите данни показват, че iNO самостоятелно не би могъл да промени продължителността на И.В., която зависи от множество фактори.

Оценката на показателя продължителност на O_2 терапията е от съществено значение при анализа на краткосрочния изход от терапията. Важността му се определя от факта, че той подобно на продължителността на И.В. има отношение към развитието на хронични усложнения при екстремно недоносени деца **(табл. 21)**.

Таблица 21. Продължителност на O_2 терапията в групите под 30 г.с.

Група		**N**	**Mean**	**Std. Deviation**	**Std. Error Mean**
Дни O_2	iNO	11	24.55	10.940	3.298
	контрола	18*	72.28	17.573	4.142

p – 0.000; Mann-Whitney test **p – 0.000**

* Броят на пациентите е 18, поради настъпил летален изход при 3 пациента, които провеждат само И.В. след раждането.

Средната продължителност на O_2 терапията в iNO-групата е ниска – 25 дни, доката в контролната група е близо 3 пъти по-висока (72 дни). Между двете групи се установява сигнификантна статистическа разлика с p – 0.000.

В iNO групата само пациентите с продължителност на O_2 терапията над средната имат „късна“ БХ (оценена в 36 г.с.). В контролната група „късна“ БХ се установява и при пациенти, които са провеждали кратко време O_2 терапия.

Обсъждане: Отчетливо по-ниската продължителност на O_2 терапията в iNO групата е от съществено значение за дългосрочната прогноза при екстремно недоносените деца. Обясняваме този благоприятен ефект на медикамента със следните фактори:

- Постигане на хемодинамична стабилност при екстремно недоносени деца в критично общо състояние и съответно понижение на техните O_2 нужди.
- Преодоляване на ‚ранната“ БХ, която е причина за тежки хипоксемии и нужда от подаване на O_2 продължително време.
- Статистически значимо по-ниската честота на „късна“ БХ в терапевтичната група. „Късната“ БХ възниква като усложнение на Бронхопулмоналната дисплазия, което влошава тежестта на протичане на хроничното заболяване. Това влошаване клинично протича като повишени нужди от продължителна O_2 терапия.

В заключение от анализа на краткосрочния ефект от терапията с iNO при недоносени деца под 30 г.с. можем да подчертаем, че нашите данни не се различават съществено от цитираните резултати в литературата [139,102]. Медикаментът не променя комплексни показатели като смъртност и/или болничен престой.

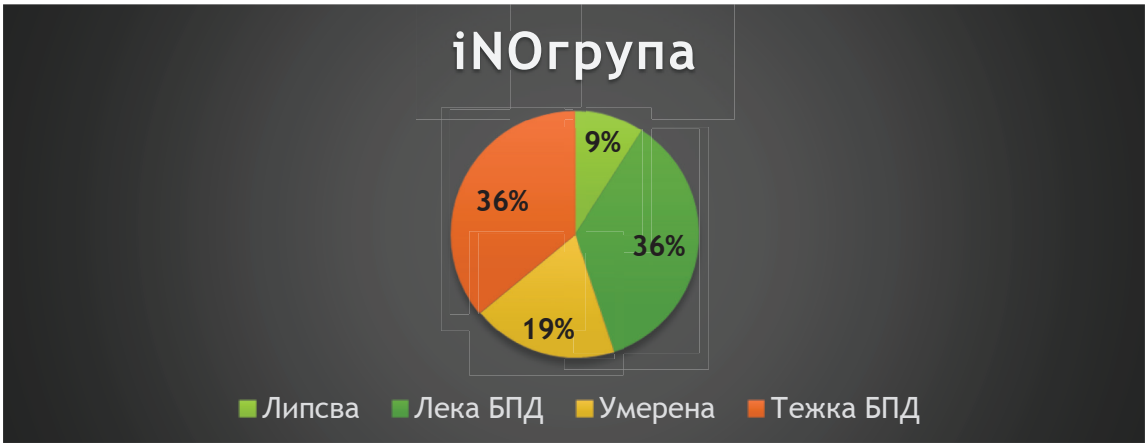
Благоприятният ефект върху продължителността на O_2 терапията дава основание за надежда по отношение на намаляване на хроничните увреждания.

3. АНАЛИЗ НА ДЪЛГОСРОЧНИЯ ИЗХОД ОТ ТЕРАПИЯТА С iNO ПРИ НЕДОНОСЕНИ ДЕЦА

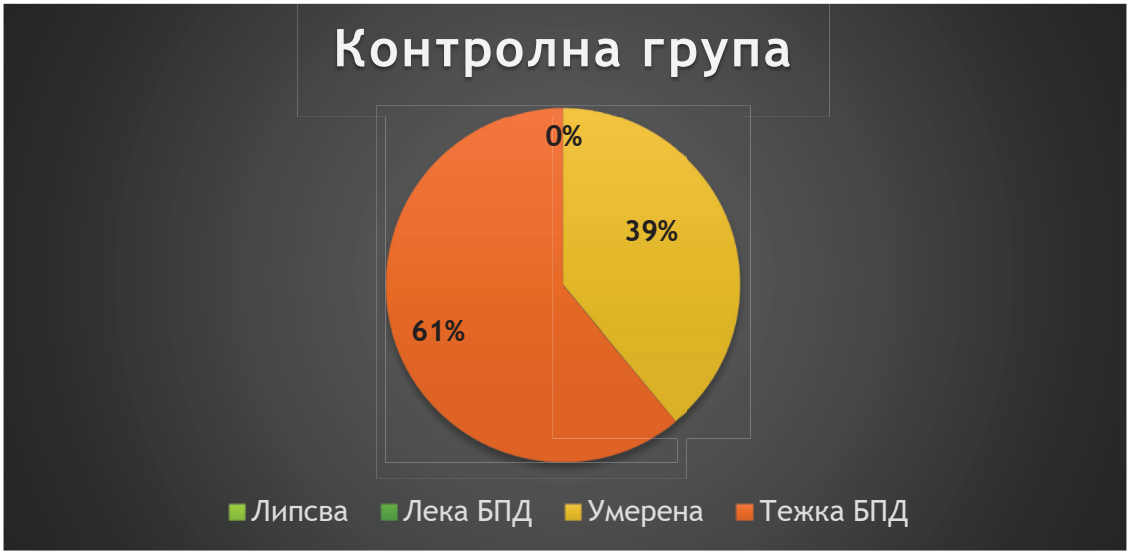
3.1. Бронхопулмонална дисплазия

Въпреки отчетливия напредък на перинаталните и неонаталните грижи в последните години, изразяващ се в оцеляването на все по-голям брой екстремно недоносени деца, честотата на късното усложнение Бронхопулмонална дисплазия (БПД) остава неприемливо висока. Сред 8156 европейски новородени, включени във Vermont Oxford Network през 2017 г., с РДС са кодирани около 80% от децата родени в 28 г.с., с увеличение до 90% за тези, родени в 24 г.с., а Хронична белодробна болест (или БПД) е кодирана при 18% от децата, родени с ниско тегло (VLBW) в Европа [110].

Тези тревожни данни са основната причина неонатолозите да продължават да търсят терапевтичен подход, който да доведе до понижаване на тази честота. Ballard et al [34] са първите учени, които доказват положителен ефект на iNO по отношение на честотата на БПД. В нашето проучване е приложен оригиналният протокол на Ballard по отношение на времето на включване, дозата и продължителността на терапията с медикамента. На **фиг.19** и **фиг.20** е представено процентното разпределение на децата в двете групи спрямо тежестта на БПД.



Фигура 19. БПД в iNO групата под 30 г.с.; БПД – Бронхопулмонална дисплазия



Фигура 20. БПД в контролната група под 30 г.с.; БПД – Бронхопулмонална дисплазия

Между двете групи се наблюдават съществени разлики по отношение на честотата на БПД. В контролната група всички оцелели пациенти (18 на брой) имат БПД, като тя е съответно умерена степен (39%) и тежка степен (61%).

В iNO групата децата с умерена степен на заболяването са 19% и между двете групи липсва статтистически значима разлика с **p–0.441**. В терапевтичната група тежка степен на БПД се среща при 36% от пациентите, като по отношение на

най-тежката форма на заболяването не се доказва статистически значима разлика между двете групи с **p–0.472**.

В iNO групата при 9% от пациентите липсва БПД и между двете групи има статистически значима разлика с **p–0.002**. В терапевтичната група 1/3 от децата са с лека степен на заболяването, каквато не се установява при нито едно дете от контролната група със статистически значима разлика **p–0.009.** При субгрупов анализ се установи, че децата с липсваща и лека степен на БПД имат следните общи характеристики:

- Гестационна възраст ≥ 27 г.с.
- Женски пол
- ППОМ и завършена кортикостероидна профилактика
- Ехокардиографски данни за „ранна“ БХ, липсваща „късна“ БХ.

Обсъждане: Според съвременната концепция за патогенезата на заболяването, БПД започва да се развива още вътреутробно, а постналталната му изява и тежест се определят от редица фактори, които допринасят за развитие на незрелия бял дроб по една патологична ос, а именно към Хронична белодробна болест [6].

Усилията на неонатолозите са насочени към разработване на стратегии за превенция на заболяването (минимизиране на белодробното увреждане и подпомагане на алвеоларното и съдово развитие) [36]. Днес са известни редица стратегии с доказан позитивен ефект:

- Витамин А
- Неинвазивно вентилаторно подпомагане
- Ниски таргети на кислородна сатурация (90-94%)
- Високочестотна осцилаторна вентилация с гарантиран обем
- Постнатален дексаметазон и хидрокортизон
- Постнатален Сърфактант + Будезонид.

Съществуват и стратегии с недостатъчно доказан позитивен ефект до този момент:

- Антенатални стероиди и постнатален Сърфактант
- Кафеин цитрат
- Вентилация с гарантиран обем
- **iNO**
- Ранно затваряне на Персистиращ артериален канал
- Лечение със стволови клетки.

Терапията с iNO на този етап все още е с недостатъчно добре проучен ефект по отношение на превенцията на БПД, за което са необходими големи рандомизирани проучвания. Броят пациенти, включени в проведеното проучване, е крайно недостатъчен, за да установи ефект върху такова полиетиологично заболяване като БПД. Считаме, че статистически значимите разлики по отношение на липсата на БПД и леката степен на заболяването се дължат преди всичко на описаните перинатални характеристики при тези пациенти: по-високата гестационна възраст, женския пол, ППОМ. Позитивният ефект на iNO по отношение на намаляване на тежестта на БПД се дължи най-вероятно на благоприятното повлияване на „ранната“ БХ при най-подходящия контингент недоносени деца – тези с ППОМ, сравнително по-висока гестационна възраст и завършена кортикостероидна профилактика.

Притеснителен е високият процент на деца от проучването, които развиват различна по тежест Бронхопулмонална дисплазия. Вероятни причини за тези резултати са перинаталните характеристики на пациентите: висок процент на интраутеринна хипотрофия (близо 50%) и в двете групи, висок процент на майчино-фетални инфекции (20%), ниската средна гестационна възраст (26г.с.), липса на възможност за прилагане на някои от стратегиите с доказан позитивен ефект по отношение на БПД превенцията – витамин А, хидрокортизон.

3.2. Ретинопатия на недоносеността

Ретинопатията на недоносеността (ROP) е едно от най-тежките хронични увреждания при недоносените деца. Основните рискови фактори за развитие на заболяването са ниската гестационна възраст, хипоксемията, хипероксията (продължителна изкуствена вентилация и кислородотерапия).

Въпреки че, iNO няма отношение към развитието и/или превенцията на това заболяване, се анализира честотата на ROP, поради доказано по-ниска продължителност на кислородотерапията в iNO-групата **(табл.22)**.

Таблица 22. Честота на Ретинопатия в групите под 30 г.с.

		Ретинопатия		Общо
		Няма	Има	
Група	контрола	13(62)	**8(38)**	21
	iNO	8(73)	**3(27)**	11
Общо		21(100)	11(100)	32

* Данните са представени като брой и % (в скобите); **p – 0.703**

В контролната група 38% от децата, а в iNO 27% от пациентите развиват различна по степен Ретинопатия, като между двете групи липсва статистически

значима разлика с p – 0.703. Въпреки разликите между групите по отношение на рискови фактори за развитие на ROP (Изкуствена вентилация и кислородотерапия), iNO не повлиява честотата и тежестта на това хронично усложнение при недоносените деца.

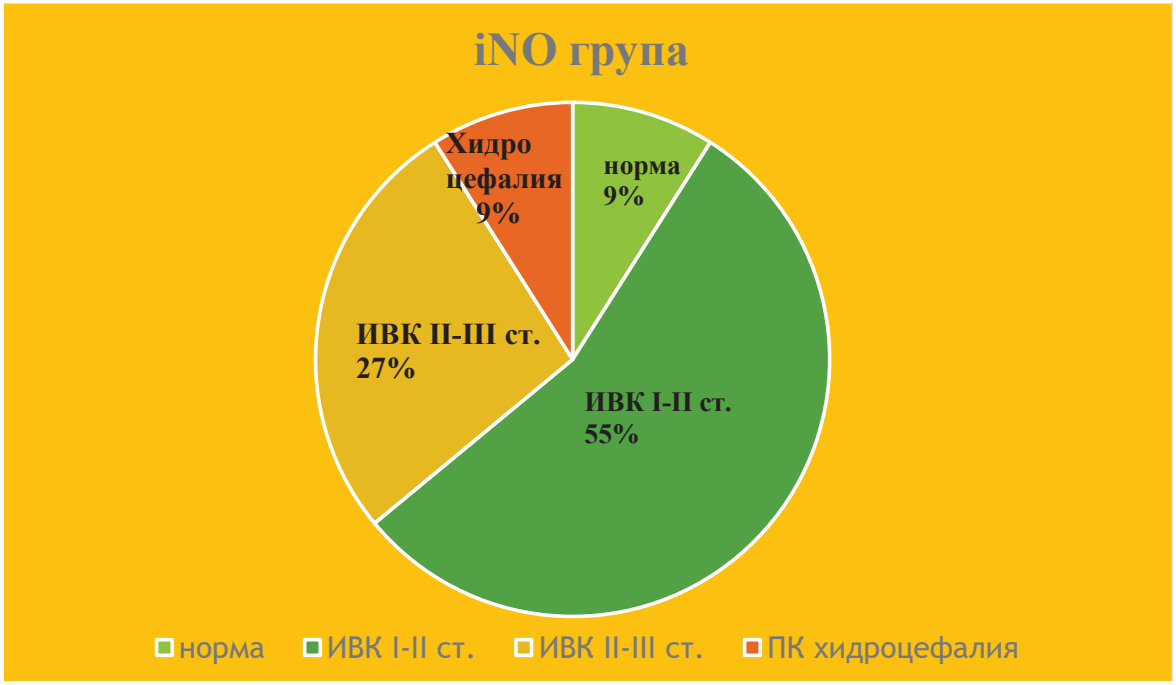
3.3. Трансфонтанелна ехография

Ултразвуковото проследяване на мозъчната структура при недоносените деца е от изключително значение, тъй като това е ранен скринингов метод за късни неврологични увреждания.

Трансфонтанелна ехография при включените в проучването пациенти е проведена двукратно: в първите седем дни след раждането (тъй като тежки степени на мозъчни увреждания са изключващ критерий за започване на терапия с iNO) и в 36 г.с. (като прогностичен белег за бъдещи неврологични увреждания).

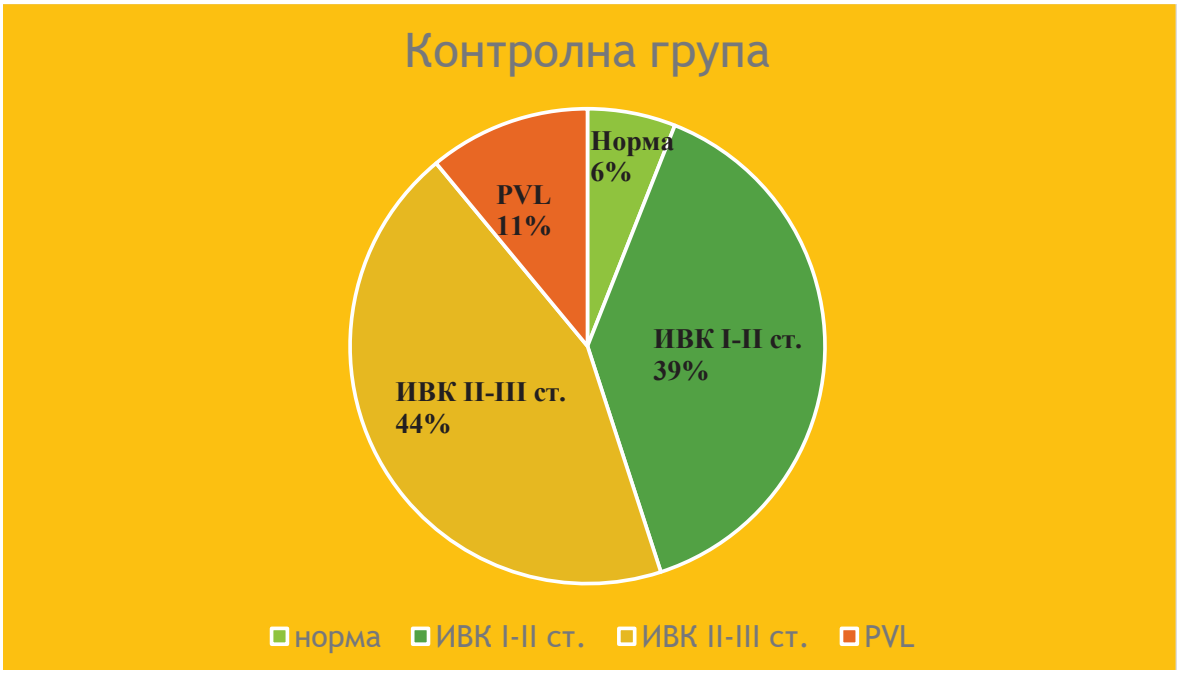
Ехографията в първите седем дни при всички включени пациенти е нормална или с малки промени (Интравентрикуларни кръвоизливи ИВК I-II степен и/или повишена ехогенност перивентрикуларно).

На **фиг. 21** и **фиг. 22** са представени основните мозъчни промени при трансфонтанелна ехография (ТФЕ) в двете групи в 36 г.с.



Фигура 21. ТФЕ промени в iNO група 36 г.с.

ИВК - интравентрикуларен кръвоизлив; ПК - посткръвоизливна



Фигура 22. ТФЕ промени в контролна група 36 г.с.

ИВК - интравентрикуларен кръвоизлив; PVL – перивентрикуларна левкомалация

Не се установява разлика между двете групи по отношение на ТФЕ в 36 г.с. (преобладават различни по степен интравентрикуларни кръвоизливи). От тежките нарушения в iNO-групата се наблюдава посткръвоизливна хидроцефалия в 9%, а в контролната група перивентрикуларна левкомалация при 11% от пациентите.

Обсъждане: Провеждането на ТФЕ в 36 г.с. е от съществено значение за недоносените деца, включени в проучването, поради две основни причини. Първата е, че този контингент новородени деца под 30 г.с. е най-рисков за развитие на късни неврологични увреждания. Втората причина е, че някои клинични проучвания съобщават за по-висока честота на мозъчни увреждания при недоносени деца, които са лекувани с инхалаторен азотен окис.

Проучване, публикувано от NICHD Neonatal Research Network [229] се прекратява по–рано, при междинен анализ на включените 420 от общо 440 планирани деца, тъй като се установява по-висока честота на тежки ИВК или PVL в iNO групата. При крайния анализ на всички налични резултати се установява, че разликите в честотата на тежка ИВК или PVL не са статистически значими (39% срещу 32%, p=0.11).

Първото голямо рандомизирано проучване за приложение на iNO при недоносени деца, проведено от Schreiber et al [203], установява по–ниска честота на тежки вътречерепни кръвоизливи (ICH) или перивентрикуларна левкомалация (PVL) при iNO групата (12% срещу 24%, p=0.04). При субгрупов анализ се установява, че позитивен ефект от iNO се наблюдава само при деца в по – стабилно общо състояние с OI под 6.9.

Нашето проучване, вероятно лимитирано от малкия брой включени пациенти, не открива разлики по отношение на ТФЕ между двете групи пациенти.

3.4. Други

Според последната актуализация от 2019г. на Европейския консенсус за поведение при лечение на неонатален респираторен дистрес синдром при недоносени новородени деца има данни, че приложението на iNO при недоносени деца се свързва с повишен риск от онкологични заболявания в детска възраст [68]. Препоръката е медикаментът да се използва възможно най-кратко време и при липса на ефект да се преустанови терапията. До този момент нито един от включениете в нашето проучване пациенти няма данни за развитие на онкологично заболяване.

VI. ИЗВОДИ

1. Персистиращата белодробна хипертония на новороденото (PPHN) възниква най-често вторично на фона на белодробно заболяване – вродена пневмония, РДС, асфиксия, МАС, белодробен кръвоизлив, пневмоторакс. **Определящи фактори за развитието и тежестта на PPHN** са:

- **Патологично протекла бременност** (Диабет и майчина инфекция).
- Раждане чрез **Цезарово сечение** (преди 38 г.с.).
- **Съчетание** на **асфиксия** при раждане с данни за **майчино-фетална инфекция**.

2. Оксигенационният индекс (**OI**) е обективен критерий, който дава важна информация за **тежестта на PPHN и за ефекта на приложеното лечение**. Терапията с iNO води до по-бърза хемодинамична стабилизация на пациентите в сравнение с конвенционалното лечение на PPHN.

3. По време на терапията с iNO **не се установяват странични ефекти**. Липсват коагулационни нарушения, нивата на **метхемоглобин** не надвишават 5%**.**

4. При новородени деца ≥ 34г.с. с PPHN, терапията с iNO не повлиява комплексни показатели като: **летален изход, продължителност на болничен престой, хронични усложнения**.

5. Определящи фактори за развитието и тежестта на БПД са: гестационна възраст < 27 г.с., мъжки пол, патологично протекла бременност – прееклампсия, ППОМ и/или олигохидрамнион, ИУХ, асфиксия при раждане. Продължителната апаратна вентилация, както и установяването на „ранна“ БХ също са предиктивни фактори за развитие на БПД.

6. Приложението на **iNO** при високо рискови екстремно недоносени деца с **„ранна БХ” понижава на честотата на БХ в 36 г.с**.

7. Недоносените деца ≤ 30 г.с., при които се установява **положителния ефект на iNO,** имат следните **характеристики**:

- Гестационна възраст > 26г.с.
- Женски пол.
- Недоносени деца без съпътстваща Интраутеринна хипотрофия (ИУХ) и без анамнестични данни за прееклампсия при майката.
- Недоносени новородени от бременности, протекли с ППОМ.
- Завършен само един курс на лечение с антенатални кортикостероиди.
- Ехокардиография, проведена в първите 2 седмици след раждането, с данни за наличие на „ранна“ БХ.

8. Приложението на iNO при новородени с гестационна възраст ≤ 30 г.с. не повлиява показатели като: летален изход и болничен престой. **Терапията с iNO повишава** процента на децата, които оцеляват **без или с лека степен на БПД**.

Предлагаме протокол за провеждане на терапия с iNO в неонаталния период при две групи пациенти: новородени ≥34 г.с. с PPHN и недоносени деца с повишен риск за развитие на БПД.

ПРОТОКОЛ

за ЛЕЧЕНИЕ С iNO на PPHN

Включващи критерии:

- Новородени деца с гестационна възраст ≥ 34 г.с
- Дихателна недостатъчност, апаратна вентилация и OI >20, Диагноза: РДС, МАС, Вродена пневмония, Белодробна хипоплазия, Първична /Идиопатична/ PPHN, Перинатална асфиксия.
- Ехокардиография - данни за интрапулмонален дясно-ляв шънт, нарушение вентилация/перфузия, данни за PPHN
- Нормален статус на кръвосъсирване

Изключващи критерии:

- Тежки малформации**;** вродени сърдечни малформации с дясно-ляв шънт или сърдечна недостатъчност
- Нарушения в коагулационния статус
- ИВК IV степен двустранно

Терапия:

- Схема: начало с 20 ppm, оценка на ефекта на 30 мин.- отговарящи на терапията са деца с намаляване на OI с ≥20-25%. Дозата се намалява с по 5 ppm на всеки 1-2 часа до достигане на поддържаща доза от 5 ppm. Остава на тази доза 12 часа и се прави преоценка на лечението.
- Отвикване: начало при $FiO_2 < 0.7$, стъпки от 5 ppm на всеки 2-4 часа, а при доза под 5 ppm намаляване с по 1 ppm. Детето може да остане на доза 1 ppm 12-24 часа преди да се направи опит за пълно спиране на медикамента при OI около 5.
- Изследване на нива на метхемоглобин на 1-ви час от началото на лечението, на 4-ти час и след това на всеки 12 часа и/или транскутанно измерване на нивото на метхемоглобин по време на терапията с апарат MasimoSet-Rad-97.
- ТФЕ преди началото на лечението и след приключване.
- Статус на кръвосъсирване преди началото на лечението и при кървене.
- Ехокардиография преди началото на лечението и след приключване на терапията.

ПРОТОКОЛ

за ЛЕЧЕНИЕ С iNO /Превенция на БПД/

Включващи критерии:

- Недоносени деца с тегло под 1300гр. и 30 г.с.
- Апаратна вентилация /вкл. неинвазивна/ след приложение на Сърфактант повече от 7 дни
- Ехокардиографски данни за БХ
- Нормален статус на кръвосъсирване

Изключващи критерии:

- Тежки малформации
- Вродени сърдечни малформации с дясно-ляв шънт или сърдечна недостатъчност; ПАК
- Нарушения в коагулационния статус
- ИВК IV степен двустранно

Терапия:

- Начало: между 7 и 21 ден след раждането
- Схема: 20 ppm три дни, 10 ppm седем дни, 5 ppm седем дни, 2 ppm седем дни.
- Изследване на нива на метхемоглобин на 1-ви час от началото на лечението, на 4-ти час и на всеки 12 часа след това и/или транскутанно измерване на нивото на метхемоглобин по време на терапията с апарат MasimoSet-Rad-97.
- ТФЕ преди началото на лечението и в 36 г.с.
- Статус на кръвосъсирване преди началото на лечението и при кървене.
- Ехокардиография преди началото на лечението и в 36 г.с.

VII. ПРИНОСИ

Научно - теоретични приноси

1. Проведен е първият в България сравнителен анализ на конвенционалната терапия и на iNO по отношение на краткосрочната и дългосрочната прогноза на PPHN.

2. За първи път в България се оценява тежестта на PPHN и ефекта от приложеното лечение чрез обективен критерий за тежест - OI.

3. За първи път в България се оценява позитивния ефект на iNO при лечение на новородени деца ≥ 34г.с. с PPHN и без съпътстваща Вродена сърдечна малформация.

4. За първи път в България се изследва ефекта на iNO при екстремно недоносени деца с повишен риск за развитие на БПД. Потвърждава се позитивния ефект на медикамента само при определена група недоносени деца с „ранна“ БХ.

Научно - приложни приноси

1. Разработен е протокол за приложение на iNO при новородени деца ≥ 34г.с. с ехокардиографски установена PPHN.

2. Разработен е протокол за приложение на iNO при недоносени деца ≤ 30г.с. с повишен риск за развитие на БПД.

VIII. КНИГОПИС

1. Вакрилова Л, Хитрова Ст, Слънчева Б, Димитрова В, Радулова П, Нейкова К. Бронхопулмонална дисплазия при новородени с много ниско тегло – нови измерения на стария проблем. Акуш и гинекол 2015;54(4):29-36.
2. Вакрилова Л., Радулова П., Хитрова Ст., Слънчева Б. Съвременни терапевтични подходи при пулмонална хипертония на новороденото. Акушерство и гинекология, 2014, 4: 50-58.
3. Жекова Н. Перинатални рискови фактори за развитие на БПД при новородени. Наука Пулмология. 2012(4); 17-23.
4. Радулова П., Б. Слънчева. Приложение на инхалаторен NO при екстремно недоносени новородени деца с дихателна недостатъчност. Акушерство и гинекология, 2014; 4: 46-50.
5. Радулова П., Л. Вакрилова, Б. Слънчева, Р. Маринов, В. Златков. Лечение с инхалаторен NO на Персистираща белодробна хипертония при новородени деца. Акушерство и гинекология, 2016; 4: 58-50.
6. Радулова П., Слънчева Б., Вакрилова Л. Бронхо-пулмонална дисплазия – какво знаем днес? Акуш и гинекол 2015;54(9):37-44.
7. Томова В., Р. Георгиева, Д. Влахова, Д. Дянкова, Ст. Симеонова, В. Данкова. Лечение с инхалаторен азотен окис при новородени с пулмонална артериална хипертония – два клинични случаи. Педиатрия. 2018; 4: 45-49.
8. Томова В., Р. Георгиева, З. Малинова, Д. Дянкова, Ст. Симеонова. Персистираща белодробна хипертония у новороденото – Терапевтични аспекти. Педиатрия. 2016; 3:
9. A. González, J. Fabres, I. D'Apremont, G. Urcelay, M. Avaca, C. Gandolfi, et al. Randomized controlled trial of early compared with delayed use of inhaled nitric oxide in newborns with a moderate respiratory failure and pulmonary hypertension. J Perinatol, 30 (2010), pp. 420-424
10. Abman SH, Hansmann G, Archer SL, et al. American Heart Association Council on Cardiopulmonary, Critical Care, Perioperative and Resuscitation; Council on Clinical Cardiology; Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; and the American Thoracic Society. Pediatric Pulmonary Hypertension: Guidelines From the American Heart Association and American Thoracic Society. Circulation. 2015;132(21):2037–2099.
11. Abman SH, Kinsella JP, Rosenzweig EB, et al. Implications of the U.S. Food and Drug Administration warning against the use of sildenafil for the treatment of pediatric pulmonary hypertension. American journal of respiratory and critical care medicine. 2013;187:572–575.
12. Aboudi D, Swaminathan N, Brumberg H, Shi Q, Friedman D, Parvez B, Krishnan U. Sildenafil and Retinopathy of Prematurity in Preterm Infants with Bronchopulmonary Dysplasia.J Pediatr. 2018 Aug; 199:16-21.
13. Ahmad KA, et al. Intravenous epoprostenol improves oxygenation index in patients with persistent pulmonary hypertension of the newborn refractory to nitric oxide. J Perinatol. 2018,38:1212-1219.
14. Aikio O, Metsola J, Vuolteenaho R, Perhomaa M, Hallman M. Transient defect in nitric oxide generation after rupture of fetal membranes and responsiveness to inhaled nitric oxide in very preterm infants with hypoxic respiratory failure. J Pediatr. 2012;161:397–403.
15. Al Yazidi G, Srour M, Wintermark P. Risk Factors for Intraventricular Hemorrhage in Term Asphyxiated Newborns Treated With Hypothermia. Pediatr Neurol. 2014;50:630–5.
16. Alano M.A., Ngougmna E., Ostrea E.M., Jr., Konduri G.G. Analysis of nonsteroidal antiinflammatory drugs in meconium and its relation to persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatrics. 2001;107:519–523.

17. Albertine KH, Dahl MJ, Gonzales LW, Wang ZM, Metcalfe D, Hyde DM, et al. Chronic lung disease in preterm lambs: effect of daily vitamin A treatment on alveolarization. American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology. 2010;299:L59–L72.
18. Al-Ghanem G, Shah P, Thomas S, Banfield L, El Helou S et al. Bronchopulmonary dysplasia and pulmonary hypertension: a meta-analysis, J Perinatol. 2017, 37(4), 414-419.
19. Ali Z, Schmidt P, Dodd J, Jeppesen DL. Predictors of bronchopulmonary dysplasiq and pulmonary hypertension in newborn children. Dan Med J. 2013. 60(8), A4688.
20. Ambalavanan N, Kennedy K, Tyson J, Carlo WA. Survey of vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants: is clinical practice consistent with the evidence? The Journal of pediatrics. 2004;145:304–307.
21. Ambalavanan N, Tyson JE, Kennedy KA, Hansen N, Vohr BR, Wright LL *et al*. Vitamin a supplementation for extremely low birth weight infants: outcome at 18 to 22 months. Pediatrics 2005; 115: e249–e254.
22. Ambalavanan N, Tyson JE, Kennedy KA, Hansen NI, Vohr BR, Wright LL, et al. Vitamin A supplementation for extremely low birth weight infants: outcome at 18 to 22 months. Pediatrics. 2005;115:e249–e254.
23. American Academy of Pediatrics. Committee on Fetus and Newborn. Use of inhaled nitric oxide. Pediatrics, 106 (2000), pp. 344-345
24. American Heart Association in collaboration with International Liaison Committee on Resuscitation. Guidelines 2000 for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care: International Consensus on Science, Part 11: Neonatal Resuscitation. Circulation 2000;102(supplI):I343—I358.
25. An HS, Bae EJ, Kim GB, Kwon BS, Beak JS, Kim EK, et al. Pulmonary hypertension in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. Korean Circ J. 2010;40:131–136.
26. Anita M. Ware, Sergio G. Golombek. Weaning of inhaled nitric oxide: is there a best strategy? Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine 2015;4(1):e040124.
27. Armstrong EP, Dhanda R. Cost-effectiveness of early compared to late inhaled nitric oxide therapy in near-term infants. Curr Med Res Opin. 2010;26:2795–2800
28. Aschner JL, Fike CD. New developments in the pathogenesis and management of neonatal pulmonary hypertension. In: Bancalari E, editor. The Newborn Lung. Saunders Elsevier; Philadelphia: 2008. pp. 241–99.
29. Askie LM, Ballard RA, Cutter GR, et al. Inhaled nitric oxide in preterm infants: an individual-patient data meta-analysis of randomized trials. Pediatrics. 2011 Oct;128(4):729–739.
30. Aslam M, Baveja R, Liang OD, Fernandez-Gonzalez A, Lee C, Mitsialis SA, Kourembanas S. Bone marrow stromal cells attenuate lung injury in a murine model of neonatal chronic lung disease. Am J Respir Crit Care Med. 2009;180:1122–1130.
31. Austin ED, Loyd JE. Toward precision medicine in pulmonary arterial hypertension. Am J Respir Crit Care Med. 2015;192(11):1272–1274.
32. Baird J.S., Havalad V., Aponte-Patel L., Ravindranath T.M., October T.W., Starc T.J., Smerling A.J. Nitric oxide-associated pulmonary edema in children with pulmonary venous hypertension. Pediatr. Cardiol. 2012;34:817–825.
33. Baker CD, Abman SH, Mourani PM. Pulmonary hypertension in preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. Pediatr Allergy Immunol Pulmonol. 2014;27(1):8–16.
34. Ballard RA, Truog WE, Cnaan A, et al. Inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. The New England journal of medicine. 2006 Jul 27;355(4):343–353.
35. Bancalari E, Claure N. Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. Semin Perinatol 2006; 30: 164–170.

36. Bancalari E, Jain D. Bronchopulmonary Dysplasia: 50 years after the Original Description. Neonatology 2019; 115:384-391.
37. Baquero H, Soliz A, Neira F, Venegas ME, Sola A. Oral sildenafil in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn: a pilot randomized blinded study. Pediatrics. 2006;117:1077–1083.
38. Baraldi E, Bonetto G, Zacchello F, Filippone M. Low exhaled nitric oxide in school-age children with bronchopulmonary dysplasia and airflow limitation. Am J Respir Crit Care Med. 2005;171:68–72.
39. Barrington KJ, Finer N. Inhaled nitric oxide for respiratory failure in preterm infants. The Cochrane database of systematic reviews. 2010;(12):CD000509.
40. Barrington KJ, Finer N. Inhaled nitric oxide for respiratory failure in preterm infants. The Cochrane database of systematic reviews. 2010;(12):CD000509.
41. Barrington KJ, Finer NN,. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term.,Cochrane Database Syst, Rev 2017;(1):CD000399.
42. Barrington KJ., Finer N., Pennaforte T., Altit G. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. Cochrane Database Syst Rev. 2017 Jan 5.
43. Baud O, Maury L, Lebail F, Ramful D, El Moussawi F, Nicaise C, et al. Effect of early low-dose hydrocortisone on survival without bronchopulmonary dysplasia in extremely preterm infants (PREMILOC): a double-blind, placebo-controlled, multicentre, randomised trial. Lancet Lond Engl. 2016. April 30;387(10030):1827–36.
44. Bayley N. Bayley scales of infant development. 2nd ed ed. San Antonio, Texas: Harcourt Brace; 1993.
45. Bhandari V, Bizzarro MJ, Shetty A, Zhong X, Page GP, Zhang H, Ment LR, Gruen JR, Neonatal Genetics Study Group Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. Pediatrics. 2006;117:1901–1906.
46. Bland RD, Albertine KH, Carlton DP, MacRitchie AJ. Inhaled nitric oxide effects on lung structure and function in chronically ventilated preterm lambs. American journal of respiratory and critical care medicine. 2005 Oct 1;172(7):899–906.
47. Bobby Mathew, Satyan Lakshminrusimha. Persistent Pulmonary Hypertension in the Newborn. MDPI Children, 2017 Aug; 4(8): 63.
48. Byers HM, Dagle JM, Klein JM, Ryckman KK, McDonald EL, Murray JC, et al. Variations in CRHR1 are associated with persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatr Res. 2012;71:162–7.
49. Cabral JE, Belik J. Persistent pulmonary hypertension of the newborn: recent advances in pathophysiology and treatment. J Pediatr (Rio J). 2013 May-Jun. 89(3):226-42.
50. Chailley-Heu B, Chelly N, Lelievre-Pegorier M, Barlier-Mur AM, Merlet-Benichou C, Bourbon JR. Mild vitamin A deficiency delays fetal lung maturation in the rat. American journal of respiratory cell and molecular biology. 1999;21:89–96.
51. Chambers C.D., Hernandez-Diaz S., Van Marter L.J., Werler M.M., Louik C., Jones K.L., Mitchell A.A. Selective serotonin-reuptake inhibitors and risk of persistent pulmonary hypertension of the newborn. N. Engl. J. Med. 2006;354:579–587.
52. Chambers DC, Enever D, Ilic N, Sparks L, Whitelaw K, Ayres J, Yerkovich ST, Khalil D, Atkinson KM, Hopkins PM. A phase 1b study of placenta-derived mesenchymal stromal cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Respirology. 2014;19:1013–1018.
53. Chandrasekharan, P.; Kozielski, R.; Kumar, V.H.; Rawat, M.; Manja, V.; Ma, C.; Lakshminrusimha, S. Early use of inhaled nitric oxide in preterm infants: Is there a rationale for selective approach? Am. J. Perinatol. 2016, 34, 428–440.

54. Chang YS, Ahn SY, Yoo HS, Sung SI, Choi SJ, Oh WI, Park WS. Mesenchymal stem cells for bronchopulmonary dysplasia: phase 1 dose-escalation clinical trial. J Pediatr. 2014;164:966–972.
55. Cheng DR, Peart S, Tan K, Sehgal A. Nitric therapy in preterm infants: rationalised approach based on functional neonatal echocardiography. Acta Paediatr. 2016;105(2):165–171.
56. Chester M, Seedorf G, Tourneux P, et al. Cinaciguat, a soluble guanylate cyclase activator, augments cGMP after oxidative stress and causes pulmonary vasodilation in neonatal pulmonary hypertension. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. 2011;301:L755–L764.
57. Chock V.Y., Van Meurs K.P., Hintz S.R., Ehrenkranz R.A., Lemons J.A., Kendrick D.E., Stevenson D.K., Network N.N.R. Inhaled nitric oxide for preterm premature rupture of membranes, oligohydramnios, and pulmonary hypoplasia. Am. J. Perinatol. 2009;26:317–322.
58. Chock VY, Van Meurs KP, Hintz SR, et al. Inhaled nitric oxide for preterm premature rupture of membranes, oligohydramnios, and pulmonary hypoplasia. American journal of perinatology. 2009 Apr;26(4):317–322.
59. Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. Semin Neonatol 2003; 8: 73–81.
60. Cole FS, Alleyne C, Barks JD, et al. NIH Consensus Development Conference statement: inhaled nitric-oxide therapy for premature infants. Pediatrics. 2011 Feb;127(2):363–369.
61. Curstedt T, Calkovska A, Johansson J. New generation synthetic surfactants. Neonatology. 2013;103:327–330
62. Dalili H, Nili F, Sheikh M, Hardani AM, Shariat M, Nayeri F. Comparison of the four proposed Apgar scoring systems in the assessment of birth asphyxia and adverse early neurologic outcomes. PloS one. 2015;10:e0122116 10.1371/journal.pone.0122116.
63. Dani C, Bertini G, Pezzati M, Filippi L, Cecchi A, Rubaltelli FF. Inhaled nitric oxide in very preterm infants with severe respiratory distress syndrome. Acta Paediatr. 2006;95(9):1116–1123.
64. Darlow BA, Graham PJ. Vitamin A supplementation to prevent mortality and short and long-term morbidity in very low birthweight infants. Cochrane database of systematic reviews. 2007:CD000501.
65. Davidson D, Barefield ES, Kattwinkel J, Dudell G, Damask M, Straube R, et al. Inhaled nitric oxide for the early treatment of persistent pulmonary hypertension of the term newborn: a randomized, double-masked, placebo-controlled, dose-response, multicenter study. The I-NO/PPHN Study Group. Pediatrics. 1998;101:325–34.
66. De Jaegere AP, van den Anker JN. Endotracheal instillation of prostacyclin in preterm infants with persistent pulmonary hypertension. European Respiratory Journal. 1998;12:932–934.
67. Desandes R, Desandes E, Droullé P, Didier F, Longrois D, Hascoët JM. Inhaled nitric oxide improves oxygenation in very premature infants with low pulmonary blood flow. Acta Paediatr. 2004;93(1):66–69.
68. Dixon F, Ziegler DS, Bajuk B, Wright I, Hilder L, Abdel Latif ME, et al. Treatment with nitric oxide in the neonatal intensive care unit is associated with increased risk of childhood cancer. Acta Paediatr. 2018 Dec; 107(12):2092–8.
69. Dobson NR, Patel RM, Smith PB, Kuehn DR, Clark J, Vyas-Read S, Herring A, Laughon MM, Carlton D, Hunt CE. Trends in caffeine use and association between clinical outcomes and timing of therapy in very low birth weight infants. J Pediatr. 2014;164:992–998.
70. Dobyns EL, Wescott JY, Kennaugh JM, Ross MN, Stenmark KR. Eicosanoids decrease with successful extracorporeal membrane oxygenation therapy in neonatal pulmonary hypertension. American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine. 1994;149:873–80.

71. Durrmeyer X, Kayem G, Sinico M, Dassieu G, Danan C, Decobert F. Perinatal risk factors for bronchopulmonary dysplasia in extremely low gestational age infants: a pregnancy disorder-based approach. J Pediatr. 2012. April;160(4):578–583.
72. El Mazloum D, Moschino L, Bozzetto S, Baraldi E. Chronic lung disease of prematurity: long-term respiratory outcome. Neonatology. 2014;105:352–356.
73. Ellsworth MA, Harris MN, Carey WA, Spitzer AR, Clark RH. Off-label use of inhaled nitric oxide after release of NIH consensus statement. Pediatrics. 2015 Apr;135(4):643–648.
74. Ellsworth MA, Harris MN, Carey WA, Spitzer AR, Clark RH. Off-label use of inhaled nitric oxide after release of NIH Consensus Statement. Pediatrics. 2015;135(4):643–648.
75. Eriksen V, Nielsen LH, Klokker M, Greisen G. Follow-up of 5- to 11-year-old children treated for persistent pulmonary hypertension of the newborn. Acta Paediatr (2009) 98(2):304.10.1111/j.1651-2227.2008.01065
76. Eriksson L, Haglund B, Odlind V, Altman M, Ewald U, Kieler H. Perinatal conditions related to growth restriction and inflammation are associated with an increased risk of bronchopulmonary dysplasia. Acta Paediatr. 2015;104:259–263.
77. Eriksson L, Haglund B, Odlind V, Altman M, Kieler H. Prenatal inflammatory risk factors for development of bronchopulmonary dysplasia. Pediatr Pulmonol. 2014 Jul; 49(7):665-72.
78. Farrow KN, Lakshminrusimha S, Czech L, et al. Superoxide Dismutase and Inhaled Nitric Oxide Normalize Phosphodiesterase 5 Expression and Activity in Neonatal Lambs with Persistent Pulmonary Hypertension. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. 2010.
79. Fenton TR. A new infant grouth chart for preterm babies: Babson and Benda"s chart updated with recent data and a new format. BMC Pediatr. 2003; 3:13.
80. Field D, Elbourne D, Truesdale A, et al. Neonatal Ventilation With Inhaled Nitric Oxide Versus Ventilatory Support Without Inhaled Nitric Oxide for Preterm Infants With Severe Respiratory Failure: the INNOVO multicentre randomised controlled trial (ISRCTN 17821339) Pediatrics. 2005 Apr;115(4):926–936.
81. Fike CD, Dikalova A, Kaplowitz MR, Cunningham G, Summar M, Aschner JL. Rescue Treatment with L-Citrulline Inhibits Hypoxia-Induced Pulmonary Hypertension in Newborn Pigs. Am J Respir Cell Mol Biol. 2015 Aug;53(2):255-64.
82. Filan PM, McDougall PN, Shekerdemian LS. Combination pharmacotherapy for severe neonatal pulmonary hypertension. Journal of paediatrics and child health. 2006;42:219–220.
83. Finer NN, Barrington KJ. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. Cochrane Database Syst Rev. 2000:CD000399.
84. Finer NN, Evans N. Inhaled nitric oxide for the preterm infant: evidence versus practice. Pediatrics. 2015 Apr;135(4):754–756.
85. Fuglenes D, Oian P, Kristiansen IS. Obstetricians' choice of cesarean delivery in ambiguous cases: is it influenced by risk attitude or fear of complaints and litigation? Am J Obstet Gynecol 2009;200:48.e1–8.
86. G.G. Konduri, B. Vohr, C. Robertson, G.M. Sokol, A. Solimano, J. Singer, et al. Early inhaled nitric oxide therapy for term and near-term newborn infants with hypoxic respiratory failure: neurodevelopmental follow-up. J Pediatr, 150 (2007), pp. 235-240
87. Gagliardi L, Rusconi F, Da Frè M, Mello G, Carnielli V, Di Lallo D, Macagno F, Miniaci S, Corchia C, Cuttini M. Pregnancy disorders leading to very preterm birth influence neonatal outcomes: results of the population-based ACTION cohort study. Pediatr Res. 2013 Jun; 73(6):794-801.

88. Gao Y, Tolsa JF, Shen H, Raj JU. A single dose of antenatal betamethasone enhances isoprenaline and prostaglandin E2-induced relaxation of preterm ovine pulmonary arteries. Biol Neonate. 1998;73(3):182–189.
89. Garcia-Garcia ML, Gonzalez-Carrasco E, Quevedo S, Munoz C, Sanchez-Escudero V, Pozo F, Casas I, Calvo C. Clinical and virologic characteristics of early and moderate preterm infants readmitted with viral respiratory infections. Pediatr Infect Dis J. 2015;34:693–699.
90. Geary C, Whitsett J. Inhaled nitric oxide for oligohydramnios-induced pulmonary hypoplasia: a report of two cases and review of the literature. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2002 Jan;22(1):82–85.
91. Giaccone A, Kirpalani H. Judgment often impossible without randomized trials. Commentary on N. Patel: use of milrinone to treat cardiac dysfunction in infants with pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic hernia: a review of six patients. Neonatology. 2012;102:130–136. Neonatology. 2012;102:137–138.
92. Gien J., Kinsella J.P. Differences in preductal and postductal arterial blood gas measurements in infants with severe congenital diaphragmatic hernia. Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed. 2016;101:F314–F318.
93. Gilbert WM, Danielsen B. Pregnancy outcomes associated with intrauterine growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 2003 Jun;188(6):1596-9.
94. Greenough A, Alexander J, Burgess S, Chetcuti PA, Cox S, Lenney W, Turnbull F, Shaw NJ, Woods A, Boorman J, Coles S, Turner J. Home oxygen status and rehospitalisation and primary care requirements of infants with chronic lung disease. Arch Dis Child. 2002;86:40–43.
95. Grier DG, Halliday HL. Management of bronchopulmonary dysplasia in infants: guidelines for corticosteroid use. Drugs. 2005; 65(1):15-29.
96. Groothuis JR, Gutierrez KM, Lauer BA. Respiratory syncytial virus infection in children with bronchopulmonary dysplasia. Pediatrics. 1988;82:199–203.
97. Grover TR, Murthy K, Brozanski B, et al. Short-Term Outcomes and Medical and Surgical Interventions in Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia. American journal of perinatology. 2015.
98. Gupta N, Kamlin CO, Cheung M, Stewart M, Patel N. Prostaglandin El use during neonatal transfer: potential beneficial role in persistent pulmonary hypertension of the newborn. Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition. 2013;98:F186–F188.
99. Hadchouel A, Durrmeyer X, Bouzigon E, Incitti R, Huusko J, Jarreau PH, Lenclen R, Demenais F, Franco-Montoya ML, Layouni I, Patkai J, Bourbon J, Hallman M, Danan C, Delacourt C. Identification of SPOCK2 as a susceptibility gene for bronchopulmonary dysplasia. Am J Respir Crit Care Med. 2011;184:1164–1170.
100. Halvorsen T, Skadberg BT, Eide GE, Røksund O, Aksnes L, Øymar K. Characteristics of asthma and airway hyper-responsiveness after premature birth. Pediatr Allergy Immunol. 2005;16:487–494.
101. Hamvas A, Cole FS, Nogee LM. Genetic disorders of surfactant proteins. Neonatology. 2007;91:311–7.
102. Handley SCSR, Hopper AO, Govindaswami B, Bhatt DR, Van Meurs KP, Ariagno RA, Gould JB, Lee HC. Patterns of inhaled nitric oxide use in preterm infants in California Neonatal Intensive Care Units. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2016.
103. Hansen AR, Barnés CM, Folkman J, McElrath TF. Maternal preeclampsia predicts the development of bronchopulmonary dysplasia. J Pediatr. 2010. April;156(4):532–6.
104. Hascoet JM, Fresson J, Claris O, et al. The safety and efficacy of nitric oxide therapy in premature infants. The Journal of pediatrics. 2005 Mar;146(3):318–323.

105. Hernandez-Diaz S, Van Marter LJ, Werler MM, Louik C, Mitchell AA. Risk factors for persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatrics. 2007 Aug. 120(2):e272-82.
106. Hess D. Adverse effects and toxicity of inhaled nitric oxide. Respiratory Care 1999; 44 (3): 315-330.
107. Hibbs AM, Walsh MC, Martin RJ, et al. One-year respiratory outcomes of preterm infants enrolled in the Nitric Oxide (to prevent) Chronic Lung Disease trial. The Journal of pediatrics. 2008 Oct;153(4):525–529.
108. Hoffman TM, Wemovsky G, Atz AM, et al. Prophylactic intravenous use of milrinone after cardiac operation in pediatrics (PRIMACORP) study. Prophylactic Intravenous Use of Milrinone After Cardiac Operation in Pediatrics. American heart journal. 2002;143:15–21.
109. Holcomb R.G., Tyson R.W., Ivy D.D., Abman S.H., Kinsella J.P. Congenital pulmonary venous stenosis presenting as persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatr. Pulmonol. 1999;28:301–306.
110. https://nightingale.vtoxford.org/reports.aspx
111. Hwang SJ., Lee KH, Hwang JH, Choi CW, Shim JW, Chang YS, Park WS. Factors Affecting the Response to Inhaled Nitric Oxide Therapy in Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn Infants. Yonsei Med J. 2004 Feb;45(1):49-55.
112. Inhaled nitric oxide in full-term and nearly full-term infants with hypoxic respiratory failure. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group. N Engl J Med. 1997;336:597–604.
113. Iyengar A, Davis JM. Drug therapy for the prevention and treatment of bronchopulmonary dysplasia. Front Pharmacol. 2015 Feb 16;6:12.
114. Jacobs SE, Berg M, Hunt R, Tarnow-Mordi WO, Inder TE, Davis PG. Cooling for newborns with hypoxic ischaemic encephalopathy. Cochrane Database Syst Rev. 2013 Jan 31; (1):CD003311.
115. James AT, Bee C, Corcoran JD, McNamara PJ, Franklin O, El-Khuffash AF. Treatment of premature infants with pulmonary hypertension and right ventricular dysfunction with milrinone: a case series. Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association. 2015;35:268–273.
116. James AT, Corcoran JD, McNamara PJ, Franklin O, El-Khuffash AF. The effect of milrinone on right and left ventricular function when used as a rescue therapy for term infants with pulmonary hypertension. Cardiology in the young. 2015:1–10.
117. James AT, Corcoran JD, McNamara PJ, Franklin O, El-Khuffash AF. The effect of milrinone on right and left ventricular function when used as a rescue therapy for term infants with pulmonary hypertension. Cardiology in the young. 2015:1–10.
118. Janjindamai W, Thatrimontrichai A, Maneenil G, Chanvitan P, Dissaneevate S. Effectiveness and safety of intravenous iloprost for severe persistent pulmonary hypertension of the newborn. Indian pediatrics. 2013;50:934–938.
119. Jing Liu, Na Yang, and Ying Liu . High-risk Factors of Respiratory Distress Syndrome in Term Neonates: A Retrospective Case-control Study. Balkan Med J. 2014 Mar; 31(1): 64–68.
120. Jones C. Inhaled nitric oxide: are the safety issues being addressed? Intensive and Critical Care Nursing 1998; 14: 271-275.
121. Josten BE, Johnson TR, Nelson JP. Umbilical cord blood pH and Apgar scores as an index of neonatal health. Am J Obstet Gynecol. 1987; 157 (4 Pt1): 843-8.
122. Kahveci H, Yilmaz O, Avsar UZ, et al. Oral sildenafil and inhaled iloprost in the treatment of pulmonary hypertension of the newborn. Pediatric pulmonology. 2014;49:1205–1213.
123. Kaplan HC, Tabangin ME, McClendon D, Meinzen-Derr J, Margolis PA, Donovan EF. Understanding variation in vitamin A supplementation among NICUs. Pediatrics. 2010;126:e367–e373.

124. Karila C, Saulnier JP, Elie C, Taupin P, Scheinmann P, Le Bourgeois M, Waernessycle S, de Blic J. Exercise alveolar hypoventilation in long-term survivors of bronchopulmonary dysplasia. Rev Mal Respir. 2008;25:303–312
125. Keller RL, Tacy TA, Hendricks-Munoz K, et al. Congenital diaphragmatic hernia: endothelin-1, pulmonary hypertension, and disease severity. American journal of respiratory and critical care medicine. 2010;182:555–561.
126. Kelly LK, Porta NF, Goodman DM, Carroll CL, Steinhom RH. Inhaled prostacyclin for term infants with persistent pulmonary hypertension refractory to inhaled nitric oxide. Journal of Pediatrics. 2002;141:830–832.
127. Keszler M, Guilherme Sant'Anna. Mechanical ventilation and Bronchopulmonary dysplasia. Clinical perinatology. 2015; 781-792.
128. Kilbride HW, Yeast J, Thibeault DW. Defining limits of survival: lethal pulmonary hypoplasia after midtrimester premature rupture of membranes. American journal of obstetrics and gynecology. 1996 Sep;175(3 Pt 1):675–681.
129. Kinsella JP, Cutter GR, Walsh WF, et al. Early inhaled nitric oxide therapy in premature newborns with respiratory failure. The New England journal of medicine. 2006 Jul 27;355(4):354–364.
130. Kinsella JP, Parker TA, Galan H, Sheridan BC, Halbower AC, Abman SH. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary edema and lung neutrophil accumulation in severe experimental hyaline membrane disease. Pediatric research. 1997 Apr;41(4 Pt 1):457–463.
131. Kinsella JP, Steinhorn RH, Krishnan US, et al. Recommendations for the use of inhaled nitric oxide therapy in premature newborns with severe pulmonary hypertension. J Pediatr. 2016;170:312–314.
132. Kinsella JP, Steinhorn RH, Krishnan US, et al. Recommendations for the Use of Inhaled Nitric Oxide Therapy in Premature Newborns with Severe Pulmonary Hypertension. The Journal of pediatrics. 2016 Mar;170:312–314.
133. Konduri G.G. New approaches for persistent pulmonary hypertension of newborn. Clin. Perinatol. 2004;31:591–611.
134. Konduri G.G., Sokol G.M., Van Meurs K.P., Singer J., Ambalavanan N., Lee T., Solimano A. Impact of early surfactant and inhaled nitric oxide therapies on outcomes in term/late preterm neonates with moderate hypoxic respiratory failure. J. Perinatol. 2013;33:944–949.
135. Konduri GG, Kim UO. Advances in the diagnosis and management of persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatr Clin North Am. 2009;56:579–600.
136. Konduri GG, Solimano A, Sokol GM, et al; Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group. A randomized trial of early versus standard inhaled nitric oxide therapy in term and near-term newborn infants with hypoxic respiratory failure. Pediatrics 2004;113:559-64.
137. Konduri GG, Vohr B, Robertson C, et al; Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group. Early inhaled nitric oxide therapy for term and near-term newborn infants with hypoxic respiratory failure: Neurodevelopmental follow-up. J Pediatr 2007;150:235-40.
138. Kumar P, Kazzi NJ, Shankaran S. Plasma immunoreactive endothelin-1 concentrations in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. American journal of perinatology. 1996;13:335–341.
139. Kumar P. Use of inhaled nitric oxide in preterm infants. Pediatrics. 2014 Jan;133(1):164–170.
140. Kumar V.H., Hutchison A.A., Lakshminrusimha S., Morin F.C., 3rd, Wynn R.J., Ryan R.M. Characteristics of pulmonary hypertension in preterm neonates. J. Perinatol. 2007;27:214–219.
141. Kumar VH, Hutchison AA, Lakshminrusimha S, Morin FC, 3rd, Wynn RJ, Ryan RM. Characteristics of pulmonary hypertension in preterm neonates. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2007 Apr;27(4):214–219.

142. Kumar VHS. Diagnostic approach to pulmonary hypertension in premature neonates. Children. 2017;4.
143. Ladha F, Bonnet S, Eaton F, Hashimoto K, Korbutt G, Thebaud B. Sildenafil improves alveolar growth and pulmonary hypertension in hyperoxia-induced lung injury. Am J Respir Crit Care Med 2005;172:750–756.
144. Lakshminrusimha S, Russell JA, Wedgwood S, et al. Superoxide dismutase improves oxygenation and reduces oxidation in neonatal pulmonary hypertension. American journal of respiratory and critical care medicine. 2006;174:1370–1377.
145. Lakshminrusimha S, Steinhom RH. "Inodilators" in Nitric Oxide Resistant PPHN. Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. 2013 in press.
146. Lakshminrusimha S., Russell J.A., Steinhorn R.H., Swartz D.D., Ryan R.M., Gugino S.F., Wynn K.A., Kumar V.H., Mathew B., Kirmani K., et al. Pulmonary hemodynamics in neonatal lambs resuscitated with 21%, 50%, and 100% oxygen. Pediatr. Res. 2007;62:313–318.
147. Lakshminrusimha S., Swartz D.D., Gugino S.F., Ma C.X., Wynn K.A., Ryan R.M., Russell J.A., Steinhorn R.H. Oxygen concentration and pulmonary hemodynamics in newborn lambs with pulmonary hypertension. Pediatr. Res. 2009;66:539–544.
148. Lakshminrusimha S., Wynn R.J., Youssfi M., Pabalan M.J., Bommaraju M., Kirmani K., Carrion V. Use of ct angiography in the diagnosis of total anomalous venous return. J. Perinatol. 2009;29:458–461.
149. Lamarche-Vadel A, Blondel B, Truffer P, Burguet A, Cambonie G, Selton D, Arnaud C, Lardennois C, du Mazaubrun C, N'Guyen S, Mathis J, Bréart G, Kaminski M, EPIPAGE Study Group Re-hospitalization in infants younger than 29 weeks' gestation in the EPIPAGE cohort. Acta Paediatr. 2004;93:1340–1345.
150. Langleben D, DeMarchie M, Laporta D, Spanier AH, Schlesinger RD, Stewart DJ. Endothelin-1 in acute lung injury and the adult respiratory distress syndrome. American Review of Respiratory Disease. 1993;148:1646–50.
151. Lapointe A, Barrington KJ. Pulmonary hypertension and the asphyxiated newborn. J Pediatr. 2011;158:e19–24.
152. Laughon MM, Langer JC, Bose CL, et al. Prediction of bronchopulmonary dysplasia by postnatal age in extremely premature infants. American journal of respiratory and critical care medicine. 2011 Jun 15;183(12):1715–1722.
153. Lesage F, Jimenez J, Toelen J, Deprest J. Preclinical evaluation of cell-based strategies to prevent or treat bronchopulmonary dysplasia in animal models: a systematic review. J Matern Fetal Neonatal Med. 2017
154. Liu J, Shi Y, Dong JY, Zheng T, Li JY, Lu LL, et al. Clinical characteristics, diagnosis and management of respiratory distress syndrome in full-term neonates. Chin Med J (Engl) 2010;123:2640–4.
155. Lodha A, Seshia M, McMillan DD, Barrington K, Yang J, Lee SK, Shah PS, Canadian Neonatal Network Association of early caffeine administration and neonatal outcomes in very preterm neonates. JAMA Pediatr. 2015;169:33–38.
156. Malowitz JR, Hornik CP, Laughon MM, et al. Management Practice and Mortality for Infants with Congenital Diaphragmatic Hernia. American journal of perinatology. 2015.
157. Massaro AN, Bouyssi-Kobar M, Chang T, Vezina LG, du Plessis AJ, Limperopoulos C. Brain perfusion in encephalopathic newborns after therapeutic hypothermia. AJNR Am J Neuroradiol. 2013;34:1649–55.
158. Massaro GD, Massaro D. Postnatal treatment with retinoic acid increases the number of pulmonary alveoli in rats. The American journal of physiology. 1996;270:L305–L310.

159. McCaffrey MJ, Bose CL, Reiter PD, Stiles AD. Effect of L-arginine infusion on infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. Biol Neonate. 1995;67(4):240-3.
160. McCurnin DC, Pierce RA, Chang LY, et al. Inhaled NO improves early pulmonary function and modifies lung growth and elastin deposition in a baboon model of neonatal chronic lung disease. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. 2005 Mar;288(3):L450–459.
161. Mclntyre CM, Hanna BD, Rintoul N, Ramsey EZ. Safety of epoprostenol and treprostinil in children less than 12 months of age. Pulm Circ. 2013;3:862–869.
162. McNamara PJ, Shivananda SP, Sahni M, Freeman D, Taddio A. Pharmacology of milrinone in neonates with persistent pulmonary hypertension of the newborn and suboptimal response to inhaled nitric oxide. Pediatric critical care medicine : a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies. 2013;14:74–84.
163. Mei-YinLai, Shih-MingChu, SatyanLakshminrusimha, Hung-ChihLin. Beyond the inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatrics & Neonatology, Volume 59, Issue 1, February 2018, Pages 15-23
164. Mercier JC, Hummler H, Durrmeyer X, et al. Inhaled nitric oxide for prevention of bronchopulmonary dysplasia in premature babies (EUNO): a randomised controlled trial. Lancet. 2010 Jul 31;376(9738):346–354.
165. Mestan KK, Marks JD, Hecox K, Huo D, Schreiber MD. Neurodevelopmental outcomes of premature infants treated with inhaled nitric oxide. The New England journal of medicine. 2005 Jul 7;353(1):23–32.
166. Metcalfe A, Lisonkova S, Sabr Y, Stritzke A, Joseph KS. Neonatal respiratory morbidity following exposure to chorioamnionitis. BMC Pediatr. 2017;17:128.
167. Möbius MA, Thébaud B. Bronchopulmonary dysplasia—where have all the stem cells gone? Origin and (potential) function of resident lung stem cells. Chest. 2017
168. Mohamed WA, Ismail M. A randomized, double-blind, placebo-controlled, prospective study of bosentan for the treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn. Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association. 2012.
169. Monika M. Gadhia, MD, Gary R. Cutter, PhD, Steven H. Abman, MD, and John P. Kinsella, MD. Effects of Early Inhaled Nitric Oxide Therapy and Vitamin A Supplementation on the Risk for Bronchopulmonary Dysplasia in Premature Newborns with Respiratory Failure. J Pediatr. 2014 Apr; 164(4): 744–748.
170. Morel AA, Shreck E, Mally PV, Kim Y, Bailey SM, Wachtel EV. Clinical characteristics and factors associated with term and late preterm infants that do not respond to inhaled nitric oxide (iNO). J Perinat Med. 2016 Aug 1;44(6):663-8.
171. Morin FC, 3rd, Egan EA, Lundgren CE, Swartz DD. Prostacyclin does not change during an oxygen induced increase in pulmonary blood flow in the fetal lamb. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. 1988;32:139–144.
172. Mourani PM, Sontag MK, Dunbar Ivy D, Abman SH. Effects of Long-term Sildenafil Treatment for Pulmonary Hypertension in Infants with Chronic Lung Disease. The Journal of pediatrics. 2009;154(3):379-384.e2.
173. Mourani PM, Sontag MK, Ivy DD, Abman SH. Effects of long-term sildenafil treatment for pulmonary hypertension in infants with chronic lung disease. The Journal of pediatrics. 2009;154:379–384.
174. Mulla ZD, Plavsic SK, Ortiz M, Nuwayhid BS, Ananth CV. Fetal sex pairing and adverse perinatal outcomes in twin gestations. Ann Epidemiol. 2013;23:7–12.

175. Nakwan N, Nakwan N, Wannaro J. Persistent pulmonary hypertension of the newborn successfully treated with beraprost sodium: a retrospective chart review. Neonatology. 2011;99:32–37.
176. Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group. Inhaled nitric oxide in full-term and nearly full-term infants with hypoxic respiratory failure. N Engl J Med. 1997;336(9):597– 604
177. Nossaman BD, Nossaman VE, Murthy SN, Kadowitz PJ. Role of the RhoA/Rho-kinase pathway in the regulation of pulmonary vasoconstrictor function. Can J Physiol Pharmacol. 2010;88:1–8.
178. Nyp M, Sandritter T, Poppinga N, Simon C, Truog WE. Sildenafil citrate, bronchopulmonary dysplasia and disordered pulmonary gas exchange: any benefits? Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association. 2012;32:64–69.
179. Patel N. Use of milrinone to treat cardiac dysfunction in infants with pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic hernia: a review of six patients. Neonatology. 2012;102:130–136.
180. Pearson D.L., Dawling S., Walsh W.F., Haines J.L., Christman B.W., Bazyk A., Scott N., Summar M.L. Neonatal pulmonary hypertension--urea-cycle intermediates, nitric oxide production, and carbamoyl-phosphate synthetase function. N. Engl. J. Med. 2001;344:1832–1838.
181. Peelen MJ, et al. Impact of fetal gender on the risk of preterm birth, a national cohort study. Acta Obstet Gynecol Scand. 2016;95:1112–1120.
182. Peliowski A, Finer NN, Etches PC, Tierney AJ, Ryan CA. Inhaled nitric oxide for premature infants after prolonged rupture of the membranes. The Journal of pediatrics. 1995 Mar;126(3):450–453.
183. Peliowski A. Inhaled nitric oxide use in newborns. Paediatrics & child health. 2012 Feb;17(2):95–100.
184. Peliowski A; Canadian Paediatric Society, Fetus and Newborn Committee Paediatr Child Health 2012;17(2):95-7 Inhaled nitric oxide use in newborns.
185. Poindexter BB, Martin CR. Impact of nutrition on bronchopulmonary dysplasia. Clin Perinatol. 2015;42:797–806.
186. Powell SB, Silvestri JM: Safety of intratracheal transplantation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells (HUCB-MSCs) in extremely low birth weight (ELBW) preterm infants at highest risk for bronchopulmonary dysplasia (BPD). Pediatric Academic Societies Meeting, May 6–8, 2017, San Francisco, CA.
187. Qu Y, Cao Y, Liao M, Lu Z. Sagittal-lung CT measurements in the evaluation of asthma-COPD overlap syndrome: a distinctive phenotype from COPD alone. Radiol Med. 2017
188. Rabinovitch M. Pulmonary hypertension: pathophysiology as a basis for clinical decision making. J Heart Lung Transplant. 1999;18(11):1041–1053.
189. Radaelli T, Varastehpour A, Catalano P, Hauguel-de Mouzon S. Gestational diabetes induces placental genes for chronic stress and inflammatory pathways. Diabetes. 2003;52(12):2951–2958.
190. Ralser E, Mueller W, Haberland C, Fink FM, Gutenberger KH, Strobl R, Kiechl-Kohlendorfer U. Rehospitalization in the first 2 years of life in children born preterm. Acta Paediatr. 2012;101:e1–e5.
191. Rawat M., Chandrasekharan P.K., Williams A., Gugino S., Koenigsknecht C., Swartz D., Ma C.X., Mathew B., Nair J., Lakshminrusimha S. Oxygen saturation index and severity of hypoxic respiratory failure. Neonatology. 2015;107:161–166.
192. Rawat M., Chandrasekharan P.K., Williams A., Gugino S., Koenigsknecht C., Swartz D., Ma C.X., Mathew B., Nair J., Lakshminrusimha S. Oxygen Saturation Index and Severity of Hypoxic Respiratory Failure. Neonatology 2015;107:161-166.

193. Rigo V, Lefebvre C, Broux I. Surfactant instillation in spontaneously breathing preterm infants: a systematic review and meta-analysis. Eur J Pediatr. 2016;175:1933–1942.
194. Robert D, Brown J, Medley N, Dalziel SR (2017). Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. Cochrane Database of Systematic Reviews, 3, Art. No.: CD 004454.
195. Roberts JD, Jr, Roberts CT, Jones RC, Zapol WM, Bloch KD. Continuous nitric oxide inhalation reduces pulmonary arterial structural changes, right ventricular hypertrophy, and growth retardation in the hypoxic newborn rat. Circulation research. 1995 Feb;76(2):215–222.
196. Robin H Steinhorn, MD and Kathryn N Farrow, MD, PhD. Pulmonary hypertension in the neonate. NeoReviews. January 1, 2007. 8:e14 -e21.
197. Romero R, Chaiworapongsa T, Erez O, Tarca AL, Gervasi MT, Kusanovic JP, Mittal P, Ogge G, Vaisbuch E, Mazaki-Tovi S, et al. An imbalance between angiogenic and anti-angiogenic factors precedes fetal death in a subset of patients: results of a longitudinal study. J Matern Fetal Neonatal Med. 2010 Dec; 23(12):1384-99.
198. Rontanes, A., Garcia-Fragoso, L., Garcia, I., Rivera, J., and Valcarcel, M. Outcome of very-low-birth-weight infants who received epinephrine in the delivery room. Resuscitation. 2011; 82: 427–430.
199. Rosenberg AA, Lee NR, Vaver KN, Werner D, Fashaw L, Hale K, et al. School-age outcomes of newborns treated for persistent pulmonary hypertension. J Perinatol (2010) 30(2):127–3410.1038/jp.2009.139
200. Rudiger M, Braun N, Aranda J, Aguar M, Bergert R, Bystricka A. Neonatal assessment in the delivery room—Trial to Evaluate a Specified Type of Apgar (TEST-Apgar). BMC pediatrics. 2015;15:18 10.1186/s12887-015-0334-7.
201. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W, Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group Caffeine therapy for apnea of prematurity. N Engl J Med. 2006;354:2112–2121.
202. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, Solimano A, Tin W, Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group Long term effects of caffeine therapy for apnea of prematurity. N Engl J Med. 2007;357:1893–1902.
203. Schreiber MD, Gin-Mestan K, Marks JD, Huo D, Lee G, Srisuparp P. Inhaled nitric oxide in premature infants with the respiratory distress syndrome. The New England journal of medicine. 2003 Nov 27;349(22):2099–2107.
204. Scott A. Lorch, Avital Cnaan, Kurt Barnhart. Cost-Effectiveness of Inhaled Nitric Oxide for the Management of Persistent Pulmonary Hypertension of the Newborn. Pediatrics. August 2004, Volume 114 / Issue 2.
205. Semberova J, O'Donnell SM, Franta J, Miletin J. Inhaled nitric oxide in preterm infants with prolonged preterm rupture of the membranes: a case series. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2015 Apr;35(4):304–306.
206. Seth SA, Soraisham AS, Harabor A. Risk factors and outcome of early pulmonary hypertension in preterm infants. 2017. 21,1-6.
207. Shah PS, Ohlsson A, Perlman M. Hypothermia to treat neonatal hypoxic ischemic encephalopathy: systematic review. Arch Pediatr Adolesc Med. 2007;161:951–8.
208. Sharma V., Berkelhamer S.K., Lakshminrusimha S. Persistent pulmonary hypertension of the newborn. Matern. Health Neonatol. Perinatol. 2015;1:1–18.
209. Shinwell, E.S., Reichman, B., Lerner-Geva, L., Boyko, V., Blickstein, I., and Israel Neonatal Network. "Masculinizing" effect on respiratory morbidity in girls from unlike-sex preterm twins: a possible transchorionic paracrine effect. Pediatrics. 2007; 120: e447–e453.

210. Shulenin S, Nogee LM, Annilo T, Wert SE, Whitsett JA, Dean M. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. N Engl J Med. 2004;350:1296–303
211. Sinclair K, Yerkovich ST, Chambers DC. Mesenchymal stem cells and the lung. Respirology. 2013;18:397–411.
212. Soliman N, Chaput K, Alshaikh B, Yusuf K. Preeclampsia and the Risk of Bronchopulmonary Dysplasia in Preterm Infants Less Than 32 Weeks' Gestation. Am J Perinatol. 2017;34(6):585–92.
213. Steinhom RH, Fineman J, Kusic-Pajic A, et al. Bosentan as adjunctive therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn: results of the FUTURE-4 study. Circulation. 2014;130:A13503.
214. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. Pediatrics. 2010; 126(3):443-56.
215. Swier, N.L.; Richards, B.; Cua, C.L.; Lynch, S.K.; Yin, H.; Nelin, L.D.; Smith, C.V.; Backes, C.H. Pulmonary vein stenosis in neonates with severe bronchopulmonary dysplasia. Am. J. Perinatol. 2016, 33, 671–677.
216. Taha D, Kirkby S, Nawab U, Dysart KC, Genen L, Greenspan JS, Aghai ZH. Early caffeine therapy for prevention of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014;27:1698–1702.
217. Tanaka Y, Hayashi T, Kitajima H, Sumi K, Fujimura M. Inhaled nitric oxide therapy decreases the risk of cerebral palsy in preterm infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatrics 2007;119:1159-64.
218. Tapson VF, Jing ZC, Xu KF, et al. Oral treprostinil for the treatment of pulmonary arterial hypertension in patients receiving background endothelin receptor antagonist and phosphodiesterase type 5 inhibitor therapy (the FREEDOM-C2 study): a randomized controlled trial. Chest. 2013;144:952–958.
219. Teng RJ, Wu TJ. Persistent pulmonary hypertension of the newborn. J Formos Med Assoc. 2013 Apr. 112(4):177-84.
220. The Franco-Belgium Collaborative NO Trial Group. Early compared with delayed inhaled nitric oxide in moderately hypoxaemic neonates with respiratory failure: a randomised controlled trial. Lancet. 1999;354:1066–71
221. The Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group Inhaled nitric oxide in term and near-term infants: neurodevelopmental follow-up of the neonatal inhaled nitric oxide study group (NINOS). J Pediatr (2000) 136(5):611–710.1067/mpd.2000.104826
222. Thelitz S., Bekker J.M., Ovadia B., Stuart R.B., Johengen M.J., Black S.M., Fineman J.R. Inhaled nitric oxide decreases pulmonary soluble guanylate cyclase protein levels in 1-month-old lambs. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2004;127:1285–1292.
223. Tian ZF, Du J, Wang B, Hong XY, Feng ZC. Intravenous infusion of rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells ameliorates hyperoxia-induced lung injury in neonatal rats. Nan fang yi ke da xue xue bao. 2007;27:1692–1695.
224. Tworetzky W, Bristow J, Moore P, Brook MM, Segal MR, Brasch RC, Hawgood S, Fineman JR. Inhaled nitric oxide in neonates with persistent pulmonary hypertension. Lancet. 2001 Jan 13; 357(9250):118-20.
225. Tyson JE, Wright LL, Oh W, Kennedy KA, Mele L, Ehrenkranz RA, et al. Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. The New England journal of medicine. 1999;340:1962–1968.
226. Van Haaften T, Byrne R, Bonnet S, Rochefort GY, Akabutu J, Bouchentouf M, Rey-Parra GJ, Galipeau J, Haromy A, Eaton F, Chen M, Hashimoto K, Abley D, Korbutt G, Archer SL,

Thébaud B. Airway delivery of mesenchymal stem cells prevents arrested alveolar growth in neonatal lung injury in rats. Am J Respir Crit Care Med. 2009;180:1131–1142.

227. Van Marter L.J., Hernandez-Diaz S., Werler M.M., Louik C., Mitchell A.A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs in late pregnancy and persistent pulmonary hypertension of the newborn. Pediatrics. 2013;131:79–87.
228. Van Meurs KP, Rhine WD, Asselin JM, Durand DJ. Response of premature infants with severe respiratory failure to inhaled nitric oxide. Preemie NO Collaborative Group. Pediatric pulmonology. 1997 Nov;24(5):319–323.
229. Van Meurs KP, Wright LL, Ehrenkranz RA, et al. Inhaled nitric oxide for premature infants with severe respiratory failure. The New England journal of medicine. 2005 Jul 7;353(1):13–22.
230. Vento, M., Asensi, M., Sastre, J., Lloret, A., Garcia-Sala, F., and Vina, J. Oxidative stress in asphyxiated term infants resuscitated with 100% oxygen. J Pediatr. 2003; 142: 240–246.
231. Verma B, Daga SR, Mahapankar A. Persistent pulmonary hypertension among neonates with sepsis. Indian J Pediatr. 2006;73:250–1.
232. Walsh-Sukys MC, Tyson JE, Wright LL, et al. Persistent pulmonary hypertension of the newborn in the era before nitric oxide: practice variation and outcomes. *Pediatrics*. 2000 Jan. 105(1 Pt 1):14-20.
233. Wang A, Rana S, Karumanchi SA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. Physiol Bethesda Md. 2009. June;24:147–58.
234. Wang H, St Julien KR, Stevenson DK, Hoffmann TJ, Witte JS, Lazzeroni LC, Krasnow MA, Quaintance CC, Oehlert JW, Jelliffe-Pawlowski LL, Gould JB, Shaw GM, O'Brodovich HM. A genome-wide association study (GWAS) for bronchopulmonary dysplasia. Pediatrics. 2013;132:290–297.
235. Wardle AJ, Connolly GM, Stonier T, Tulloh R. Sildenafil in bronchopulmonary dysplasia: safe to use? Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition. 2015;100:F369.
236. Wax JR, Herson V, Carignan E, Mather J, Ingardia CJ. Contribution of elective delivery to severe respiratory distress at term. Am J Perinatol. 2002;19:81–86.
237. Weichelt U, Cay R, Schmitz T, Strauss E, Sifringer M, Bührer C, Endesfelder S. Prevention of hyperoxia-mediated pulmonary inflammation in neonatal rats by caffeine. Eur Respir J. 2013;41:966–973.
238. Weiler J, Tong S, Palmer KR. Is fetal growth restriction associated with a more severe maternal phenotype in the setting of early onset pre-eclampsia? A retrospective study. PLoS One. 2011; 6(10):e26937.
239. Wild LM, Nickerson PA, Morin FC., 3rd Ligating the ductus arteriosus before birth remodels the pulmonary vasculature of the lamb. Pediatric research. 1989;25:251–257.
240. Wolf D, Tseng N, Seedorf G, Roe G, Abman SH, Gien J. Endothelin-1 decreases endothelial PPARgamma signaling and impairs angiogenesis after chronic intrauterine pulmonary hypertension. American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology. 2014;306:L361–L371.
241. World Health Organization. WHO Statement on Caesarean Section Rates. Geneva: World Health Organization; 2015 (WHO/RHR/15.02).
242. Yen T-A, Yang H-I, Hsieh W-S, Chou H-C, Chen C-Y, Tsou K-I, et al. Preeclampsia and the risk of bronchopulmonary dysplasia in VLBW infants: a population based study. PloS One. 2013;8(9):e75168 10.1371/journal.pone.0075168
243. Yoder BA. Hot Topics in Neonatology. Washington, D.C.: 2013. Inhaled nitric oxide for prevention of BPD: Update on the NEWNO trial.

244. Zanardo V, Simbi AK, Franzoi M, Solda G, Salvadori A, Trevisanuto D. Neonatal respiratory morbidity risk and mode of delivery at term: influence of timing of elective caesarean delivery. Acta Paediatr. 2004;93:643–647.

245. Zayek M, Cleveland D, Morin FC., 3rd Treatment of persistent pulmonary hypertension in the newborn lamb by inhaled nitric oxide. The Journal of pediatrics. 1993;122:743–750.

246. Zeitlin J, El Ayoubi M, Jarreau PH, Draper ES, Blondel B, Künzel W, Cuttini M, Kaminski M, Gortner L, Van Reempts P, Kollée L, Papiernik E, MOSAIC Research Group. Impact of fetal growth restriction on mortality and morbidity in a very preterm birth cohort. J Pediatr. 2010 Nov; 157(5):733-9.e1.

247. Zhang H., Fox W. Management of the Infant with BPD. Assisted venlilation of the Neonate 2017(6th ed); 380-391.

248. Zupancic JA1, Hibbs AM, Palermo L, Truog WE, Cnaan A, Black DM, Ballard PL, Wadlinger SR, Ballard RA; NO CLD Trial Group. Economic evaluation of inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. Pediatrics. 2009 Nov;124(5):1325-32.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

ФИШ ЗА ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ЛЕЧЕНИЕ С iNO

БЕБЕ .....

Дата на раждане	Тегло	Ръст	Пол	Гест. възраст	КСП	Еклампсия, хипертония	ППОМ- часове, хориоамнионит	Апгар	И.В., Куросърф

ТФЕ преди NO / Дата / .....

.....

ТФЕ след NO /Дата/.....

.....

Ехокардиография / Дата / .....

.....

.....

Метхемоглобин: 1-ви час /Дата/ ..... , на 4ти час / Дата /..... ,
на 12ти час /Дата/.....

Статус на кръвосъсирване преди NO / Дата /: .....

Статус на кръв. при кървене /Дата/: .....

Начало на лечение /Дата/	**PDA** /ден, доза на NO/	**Сепсис** /ден, доза на NO/	**ИВК** /ден, доза на NO/	**Кървене** /ден, доза на NO/	**Екстубация** /ден, доза на NO/	**Край на лечение** /Дата/

Изход:

Дни И.В. /вкл. не-инв./	**Дни О2**	**Брой КС курсове**	**Болничен престой**	**БПД/36/**	**Тежест БПД**	**Смърт**