

**Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski**

Ilona Lisowska-Miszczyk

Ocena skuteczności stosowania pentoksyfiliny w postaci inhalacji w profilaktyce dysplazji oskrzelowo-płucnej u noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała.

PRACA DOKTORSKA

Promotor: Prof. dr hab. med. Ryszard Lauterbach

Pracę wykonano w Klinice Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa

Kierownik : Prof.dr hab.med. Ryszard Lauterbach

Kraków 2008

*Serdecznie dziękuję
Panu Profesorowi Ryszardowi Lauterbachowi
za pomoc okazaną przy realizacji niniejszej pracy*

Spis treści

1. Wstęp.....	5
1.1 Klasyczna definicja dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD).....	5
1.2 Czynniki predysponujące do rozwoju BPD.....	7
1.3 Epidemiologia i definicja dysplazji oskrzelowo-płucnej.....	11
1.4 Stan zapalny jako proces wyzwalający powstawanie BPD.....	13
1.5 Sterydy w profilaktyce BPD.....	16
1.6 Pentoksyfilina – własności i podstawy zastosowania w profilaktyce BPD.....	20
2. Założenia i cel pracy.....	24
3. Materiał i metodyka.....	26
3.1 Metody statystyczne	32
4. Wyniki.....	34
5. Dyskusja.....	50
6. Wnioski.....	58
7. Streszczenie.....	59
8. Summary.....	65
9. Piśmiennictwo.....	68

Spis tabel

Tabela 1. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy PTX.

Tabela 2. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB noworodków w grupie PTX.

Tabela 3. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy DX.

Tabela 4. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB noworodków w grupie DX.

Tabela 5. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy placebo.

Tabela 6. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB w grupie placebo.

Tabela 7. Porównanie masy ciała i wieku płodowego w grupach PTX, DX i placebo

Tabela 8. Porównanie płci, punktacji Apgar, częstości zapalenia błon płodowych i częstości prenatalnej podaży sterydów w grupach PTX, DX i placebo.

Tabela 9. Porównanie częstości występowania czynników ryzyka powstawania BPD w grupach PTX, DX i placebo.

Tabela 10. Porównanie stężeń cytokin w surowicy przed pierwszą podażą dawki PTX, DX i placebo.

Tabela 11. Porównanie stężeń PTX i jej metabolitów bezpośrednio po zastosowaniu ostatniej dawki leku pierwszej serii.

1. Wstęp

1.1 Klasyczna definicja dysplazji oskrzelowo-płucnej

Dysplazja oskrzelowo-płucna (bronchopulmonary dysplasia, BPD) jest przewlekłą chorobą płuc manifestującą się długotrwałą niewydolnością oddechową, a często także, koniecznością stosowania wsparcia oddechowego.

Pod wpływem wielu czynników, dochodzi do zmian chorobowych, których następstwem jest zaburzenie stosunku wentylacji do perfuzji, co powoduje hiperkapnię i hipoksemię.

Przebieg choroby charakteryzuje się zwiększoną podatnością oskrzeli na skurcz, a także podwyższonym ryzykiem zakażenia dróg oddechowych. Nierzadko występują objawy nadciśnienia płucnego oraz niewydolności prawokomorowej.

W BPD obserwuje się także większą częstość występowania retinopatii wcześniaczej [1,2,14,15].

Według badań Northwaya i wsp. przeprowadzanych w latach 70-tych, BPD stanowiła powikłanie zespołu zaburzeń oddechowych u noworodków urodzonych przedwcześnie i dotyczyła najczęściej dzieci, u których stosowano zarówno wentylację sztuczną, jak i długotrwałą podaż tlenu w wysokich stężeniach [15].

Rozwój BPD możemy oceniać zarówno na podstawie objawów klinicznych jak i zmian radiologicznych płuc.

Northway wyróżnił cztery stadia zaawansowania choroby w obrazie RTG [15]. Obraz radiologiczny pierwszego stadium BPD przypomina zespół zaburzeń oddychania w pierwszych dniach życia. Płuca są „mleczne”, z wyraźnym bronchogramem. W stopniu drugim w obrazie RTG pojawiają się zmiany charakterystyczne dla zapalenia śródmiąższowego, niedodmy, bądź manifestujące się jako obszary hiperechogeniczne. Klinicznie temu stadium rozwoju choroby towarzyszy zmniejszenie objętości oddechowych.

W trzecim stadium pojawiają się w obrazie RTG pęcherze rozedmowe, co powoduje ograniczenie powierzchni wymiany gazowej. Stadium czwarte charakteryzuje się w obrazie radiologicznym rozedmą śródmiąższową, nieregularnymi obszarami zwłóknienia oraz kardiomegalią. W określeniu stopnia zaawansowania BPD może być także pomocna radiologiczna, sześciostopniowa skala Edwardsa, uwzględniająca m.in. obecność i stopień rozedmy, ognisk zwłóknienia oraz zmian w układzie sercowo-naczyniowym [49].

W najcięższych postaciach BPD dochodzi do zmian degeneracyjnych komórek śródbłonna w naczyniach krążenia płucnego oraz do przerostu mięśniówki ścian naczyń, co czasem może prowadzić do ich obliteracji. Zmiany te powodują rozwinięcie się nadciśnienia płucnego i powstanie, źle rokującego dla dziecka, zespołu serca płucnego.

Obecnie dokładniejszą metodą obrazowania od klasycznego zdjęcia rentgenowskiego jest tomografia komputerowa, pozwalająca na uwidocznienie

nawet niewielkich zmian w płucach. Pozwala ona też na stwierdzenie wieloogniskowych zmian rozedmowych, bądź też linearnych, podopłucnowych zagęszczeń. Obraz tomograficzny płuc w BPD dobrze koreluje ze stanem klinicznym dziecka [50,51].

1.2 Czynniki predysponujące do rozwoju dysplazji oskrzelowo-płucnej

Klasyczna postać dysplazji oskrzelowo-płucnej, opisana przez Northwaya występuje obecnie coraz rzadziej. Aktualnie, w dobie ratowania życia noworodków z ekstremalnie małą urodzeniową masą ciała, zwraca się uwagę na dodatkowe czynniki predysponujące do rozwoju BPD [48].

Wiek płodowy poniżej 30 tygodnia szczególnie silnie koreluje z częstością występowania dysplazji oskrzelowo-płucnej u noworodka przedwcześnie urodzonego [52]. Niedojrzałość anatomiczna i czynnościowa płuc wcześniaków jest powodem zwiększenia podatności na związany z wentylacją uraz ciśnieniowy czy objętościowy, przy czym równocześnie występuje zmniejszona aktywność mechanizmów naprawczych [1,14,15].

U wcześniaków z przetrwałym przewodem tętniczym (PDA) stwierdza się także częściej martwicze zapalenie jelit, retinopatię wcześniaczą, krwawienie śródmózgowe oraz dysplazję oskrzelowo-płucną [53,55,56]. Powikłania te wynikają z zaburzenia narządowej dystrybucji krwi. Nadmierny przepływ krwi przez płuca, a zwłaszcza obecność wielojądrzastych leukocytów w naczyniach

kapilarnych, predysponuje do rozwoju dysplazji oskrzelowo-płucnej [53]. W PDA w aspiracie z dróg oddechowych stwierdza się podwyższone stężenie mieloperoksydazy, co może świadczyć o uszkodzeniu ścian naczyń płucnych i następnej migracji granulocytów obojętnochłonnych do przestrzeni pozanaczyniowej [24,38]. Jednakże pomimo wczesnego zamykania przewodu tętniczego metodą farmakologiczną lub chirurgiczną, nie stwierdzono równocześnie istotnego zmniejszenia się częstości występowania BPD. Prawdopodobnie nawet krótki okres zwiększonego przepływu krwi przez łożysko naczyń płucnych związany z drożnością przewodu tętniczego jest wystarczający do rozwinięcia się BPD [53,54,55].

W przebiegu sepsy proces okluzji przewodu tętniczego jest utrudniony prawdopodobnie przez podwyższone stężenie $TNF\alpha$ i innych prozapalnych cytokin w surowicy krwi. Współistnienie PDA i sepsy, przy równoczesnym nadmiernym rozdęciu płuc spowodowanym sztuczną wentylacją, prowadzi do aktywacji obecnych w pęcherzykach płucnych makrofagów oraz stymulacji granulocytów obojętnochłonnych znajdujących się we krwi, czego konsekwencją jest zwiększona produkcja wielu prozapalnych cytokin takich, jak $TNF\alpha$, IL 8, IL 12 [24,38].

Jak wiadomo odpowiedź zapalna w płucach spowodowana może być zarówno czynnikami infekcyjnymi, jak i nieinfekcyjnymi. Wśród czynników nieinfekcyjnych oprócz urazu mechanicznego związanego ze sztuczną wentylacją, wymienić należy stres oksydacyjny [44]. Spowodowany jest on

podażą tlenu i następową zwiększoną produkcją wolnych rodników tlenowych, co przy niskiej aktywności układów „zmiatających” aktywne cząstki tlenu u noworodków przedwcześnie urodzonych, może prowadzić do istotnych uszkodzeń pęcherzyków płucnych i struktur międzypęcherzykowych [44].

Wśród przyczyn infekcyjnych prowadzących do stanu zapalnego będącego istotną przyczyną powstania BPD należą zakażenia bakteryjne (64,65). Stwierdzono, iż po okresie 2 tygodni sztucznej wentylacji, płuca u ponad 80% pacjentów skolonizowane są przez bakterie Gram(+). Najczęściej są to: *Staphylococcus epidermidis* lub *Staphylococcus haemolyticus*. Około 36% noworodków hospitalizowanych w oddziale intensywnej terapii kolonizuje się bakteriami Gram(-), wśród których najczęściej wymienia się: *Klebsiellę pneumoniae* (25%), *Enterobacter cloacae* (25%), *E.coli* (25%), *Pseudomonas aeruginosa* (10%), *Serratia marcescens* (10%), *Acinetobacter baumani* i *Haemophilus influenzae* (łącznie 5%) [70,76]. Kolonizacja dróg oddechowych bakteriami sprzyja rozwojowi przewlekłego stanu zapalnego. Szczególnie trudne do leczenia są infekcje wywołane bakteriami Gram (-) i występowanie tych zakażeń koreluje z ciężkimi postaciami BPD [70].

Istotnym czynnikiem ryzyka powstania BPD są też płucne infekcje spowodowane tzw. drobnoustrojami atypowymi, do których należą przede wszystkim *Chlamydia* (szczególnie *Chlamydia pneumoniae*) oraz *Mycoplasma* (*Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*)[76].

Dane epidemiologiczne wskazują także na istotną zależność pomiędzy obecnością wyżej wymienionych drobnoustrojów w drogach rodnych matki, a większą skłonnością do występowania porodów przedwczesnych [77].

U 65% pacjentów z rozpoznaniem BPD stwierdzono przy pomocy metody PCR obecność *Ureaplasma urealyticum* w wydzielinie z drzewa oskrzelowego [63].

Najczęstszą przyczyną infekcji spowodowanej przez drobnoustroje określane jako atypowe, jest *Ureaplasma urealyticum*. Mikroorganizm ten powoduje w komórkach nabłonkowych płuc produkcję czynników chemotaktycznych dla leukocytów wielojądrzastych (PMN- polymorphonuclear leucocytes). Należą do nich m.in.: interleukina 8 (IL-8) i peptyd ENA-78 (epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide)[64]. Badania immunobiochemiczne wycinków płuc pobranych od zwierząt z zapaleniem wywołanym przez *Ureaplasme* *urealyticum*, wykazały istotnie wyższe stężenia TNF α , IL-1 β , TGF β 1, oncostatyny M i interferonu γ oraz MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) w porównaniu do zdrowych zwierząt [57,66,74]. Dane te mogą sugerować, iż występująca prenatalnie bądź okołoporodowo infekcja spowodowana tym patogenem, wywołuje odpowiedź zapalną w płucach noworodka, prowadzącą zarówno do ich włóknienia, jak i zaburzenia procesu dojrzewania i morfologicznego różnicowania [76]. Jeśli towarzyszy temu dość często występująca u najmniejszych wcześniaków w pierwszym tygodniu życia niewydolność kory nadnerczy, to ryzyko wystąpienia BPD znacznie wzrasta.

Podaż płynów i kalorii u noworodków w pierwszych dniach, a nawet godzinach życia ma istotny wpływ na funkcję płuc w okresie noworodkowym, jak i wczesnoniemowlęcym. Zarówno zbyt duże obciążenie płynowe układu krążenia, jak i za mała podaż kalorii, istotnie zwiększa ryzyko powstania zmian dysplastycznych w płucach [1,14,15,24].

1.3 Epidemiologia i definicja dysplazji oskrzelowo-płucnej.

W latach 70- tych Bancalari zdefiniował BPD jako niewydolność oddechową z charakterystycznymi dla tej choroby objawami radiologicznymi oraz tlenozależnością utrzymującą się przez co najmniej 28 dni. Według Shehmana, BPD rozpoznawano z chwilą stwierdzenia tlenozależności z towarzyszącymi zmianami radiologicznymi w 36 tygodniu wieku postkonceptyjnego (PCA – postconceptional age).

W związku z możliwością przeżycia coraz to bardziej niedojrzałych wcześniaków, m.in. dzięki podaży sterydów u matek przed wystąpieniem porodu przedwczesnego, a także stosowaniu surfaktantu w pierwszych dobach życia, powyższe definicje BPD uległy ostatnio zmianie. Okazało się bowiem, że dzieci te w pierwszych dniach życia często wymagają jedynie podaży tlenu w niewielkich stężeniach, bądź nawet utrzymują prawidłowe wartości saturacji oddychając jedynie powietrzem. Stan ten często opisuje się jako tzw. „miesiąc miodowy” [24]. Jednakże obraz radiologiczny płuc u tych noworodków w miarę

upływu czasu stopniowo pogarsza się, czemu towarzyszą objawy kliniczne narastającej niewydolności oddechowej. Związane jest to najczęściej z wystąpieniem zapalenia płuc lub sepsy, bądź też z obecnością przetrwałego przewodu tętniczego. Zmiany radiologiczne wykazują wtedy często tylko przymglenie obrazu pól płucnych, a jedynie w rzadkich przypadkach stwierdza się wyraźne ogniska zapalne bądź torbiele płuc.

A zatem, według nowej definicji przyjęto następujące kryteria rozpoznania BPD: konieczność podaży tlenu w 36 tygodniu PCA oraz łączny okres ciągłej tlenoterapii dłuższy niż 27 dni, ze współistnieniem charakterystycznych dla tej jednostki chorobowej zmian radiologicznych [24].

Proponuje się też uściślenie kryteriów rozpoznania BPD w zależności od wieku płodowego. I tak dla noworodków urodzonych przed 32 tygodniem życia płodowego BPD charakteryzowana jest przez tlenozależność w 36 tygodniu PCA lub w momencie wypisu do domu, przez okres dłuższy niż 27 dni. Dla noworodków urodzonych w 32 tygodniu PCA bądź później, za czasową granicę tlenoterapii potrzebną do postawienia diagnozy BPD uznaje się 56 dobę życia lub moment wypisu dziecka do domu, w zależności od tego co nastąpi jako pierwsze. [105]

Można też wyróżnić trzy postacie BPD: łagodną, umiarkowaną i ciężką, zależnie od zapotrzebowania na tlen, bądź wsparcie oddechowe (nCPAP lub PPV) w momencie ustalenia ostatecznego rozpoznania. [46]

Według opracowania opartego na danych zebranych na podstawie Vermont Oxford Network Annual Database w 1999 roku, częstość występowania BPD u noworodków ze skrajnie małą urodzeniową masą ciała (<1000 g ELBW) wynosi około 39-60%, natomiast w grupie dzieci z bardzo małą urodzeniową masą ciała (1000 - 1500g VLBW) – poniżej 20%. Wykazano także, iż do zmian charakterystycznych dla BPD dochodzi częściej u chłopców niż u dziewczynek [1,2].

1.4 Stan zapalny jako proces wyzwalający powstawanie dysplazji

oskrzelowo-płucnej

Uszkodzenie struktury płuc spowodowane zarówno podażą zbyt dużych objętości oddechowych, jak i infekcją wyzwała równocześnie procesy naprawcze, które manifestują się odczynem zapalnym. Mają one na celu nie tylko zniszczenie patogenu, ale także regenerację powstałych uszkodzeń. Główną rolę w generowaniu odpowiedzi zapalnej odgrywają makrofagi i leukocyty wielojądrzaste. Jeżeli bodziec uszkadzający płuca jest zbyt silny, lub jego działanie przedłuża się, dochodzi do niekontrolowanej, nadmiernej stymulacji makrofagów i produkcji nie tylko wzrostowych czynników regenerujących, ale także tych, które potęgują reakcję zapalną i nasilają destrukcję tkanki. Należą do nich przede wszystkim enzymy uwalniane z

leukocytów, takie jak elastaza czy metaloproteinazy [27]. Poprzez wytwarzanie TNF α czy IL-1 β , makrofagi pobudzają płucne fibroblasty do syntezy czynników chemotaktycznych dla leukocytów wielojądrzastych, takich, jak IL-8, LT B4 oraz C5a. Prawdopodobnie niedojrzały organizm wcześniaka nie jest w stanie uruchomić mechanizmów hamujących i wyprodukować wystarczającej ilości czynników przeciwzapalnych [42]. Wzrost syntezy nie tylko prozapalnych cytokin, ale także proteaz oraz toksycznych produktów przemiany tlenu powoduje dalsze uszkodzenie płuc. W obrazie histologicznym dominuje wtedy obrzęk śródmiąższowy, pęknięcie przegród międzypęcherzykowych oraz nasilony proces włóknienia i zahamowanie procesu dojrzewania pneumocytów I rzędu. Końcowym efektem tych zaburzeń jest charakterystyczne dla „nowej” postaci BPD występowanie olbrzymich pęcherzyków, jednak w znacznie zmniejszonej ilości. W konsekwencji tego dochodzi do istotnego ograniczenia powierzchni wymiany gazowej w płucach. W badaniach klinicznych wykazano istotną statystycznie, dodatnią korelację pomiędzy wartościami stężenia IL-1, IL-8 i IL-8 w popłuczynach oskrzelowo-płucnych, a występowaniem zmian charakterystycznych dla BPD [41]. W badaniach eksperymentalnych udowodniono również bezpośredni udział prozapalnych cytokin w uszkodzaniu surfaktantu oraz wykazano nasiloną kumulację włókniaka w płucach [73]. Jak wiadomo aspiraty z tchawicy, pobrane od noworodków wymagających podaży tlenu w 36 tygodniu wieku PCA, zawierają podwyższone stężenia zarówno MCP-1,2,3 (monocyte

chemoattractant proteins), jak i MIP-1 alpha oraz MIP-1 beta (macrophage inflammatory proteins 1 α , 1 β). Wysokie stężenia wyżej wymienionych czynników stwierdzano w treści pobranej z tchawicy noworodków w przypadkach ciąży powikłanej zapaleniem błon płodowych, a także w zakażeniu wywołanym przez *Ureaplasma urealyticum* [69].

Istotnym czynnikiem w patomechanizmie rozwoju zmian prowadzących do BPD jest zwiększona produkcja reaktywnych form tlenu przez komórki fagocytyjające oraz występująca równocześnie w niedojrzałym organizmie wcześniaka, obniżona aktywność układów enzymatycznych, chroniących komórkę przed działaniem wolnych rodników [44]. Jak wynika z wielu badań, stężenie IL-8 i MCP-1 w aspiracie z tchawicy u noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała w pierwszych dobach po urodzeniu koreluje z długością okresu mechanicznej wentylacji i zapotrzebowania na tlen [66]. Ponadto narastanie zarówno stężeń IL-8, jak i MCP-1 w pierwszych 2 tygodniach życia koreluje dodatnio z częstością występowania BPD [66]. Ważną rolę w hamowaniu procesu zapalnego odpowiedzialnego za powstanie BPD może odgrywać działająca przeciwzapalnie IL-10. Niskie stężenie tej interleukiny wykazano w aspiratach z tchawicy u noworodków tlenozależnych w 36 tygodniu PCA, u których doszło do powstania BPD. Aktualnie podejmowane są próby określenia genetycznych czynników ryzyka rozwoju BPD u noworodków przedwcześnie urodzonych.

Być może nasilenie odpowiedzi zapalnej oraz jej czas trwania determinowane są polimorfizmem genów dla TNF α , IL-1, IL-10 [35,68]. Wstępne wyniki tych badań są niezwykle interesujące, wykazują bowiem istotne zależności w tym zakresie.

1.5 Sterydy w profilaktyce BPD

Do chwili obecnej metody zarówno profilaktyki, jak i postępowania terapeutycznego w BPD nie są wystarczająco skuteczne, a często powodują także powstanie licznych objawów ubocznych. W latach 70-tych i 80-tych najczęstszym postępowaniem profilaktycznym i leczniczym w BPD, rekomendowanym przez Amerykańską Akademię Pediatrii [3] była wczesna, pourodzeniowa podaż sterydów. Jak wiadomo leki te działają przeciwzapalnie, przeciwobrzękowo, hamują migrację leukocytów i proces fagocytozy oraz odkładanie włókniaka w zmienionej chorobowo tkance śródmiąższowej płuc [8,9]. Proponowano różne schematy podawania dożylnego sterydów w profilaktyce BPD. Stosowano zarówno podaż tzw. wczesną, w pierwszych czterech dobach życia, jak i późną - między 7 a 14 dobą życia [4,5].

Próbowano też ocenić skuteczność podaży sterydów jako terapii BPD po 4 tygodniu od chwili urodzenia [6].

Najczęściej stosowanym wtedy preparatem sterydowym był deksametazon. Wiele badań klinicznych i eksperymentalnych potwierdzało skuteczność takiego

postępowania w poprawie parametrów mechaniki wentylacji, skracaniu czasu wentylacji mechanicznej, zmniejszaniu liczby pacjentów tlenozależnych w 36 tygodniu PCA.

Zarówno podaż profilaktyczna, jak i lecznicza sterydów zmniejszała ryzyko zgonu w przebiegu BPD [3,11,26,28].

Jednakże stosowanie sterydów powoduje nie tylko silne działanie przeciwzapalne zmniejszające występowanie BPD, ale też dużą ilość objawów ubocznych. Szczególnie dotyczy to stosowania tych leków w pierwszych czterech dniach życia. Wielu autorów opisuje objawy uboczne sterydoterapii, dzieląc je równocześnie na powikłania wczesne oraz późne [4,5,6,11,31,37,39].

W metaanalizie wyników uzyskanych w drodze wielośrodkowych prospektywnych badań klinicznych Stark i wsp. potwierdzili znamienne statystycznie większe ryzyko samoistnej perforacji przewodu pokarmowego w pierwszych 14 dniach życia (13% vs 4% przy podaży placebo) u wcześniaków ELBW leczonych deksametazonem [11]. Wykazali oni także w grupie leczonych częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego (27% vs 4%) oraz hiperglikemii wymagającej leczenia insuliną (23% vs 12%) [11,16]. Ponadto stosowanie sterydów u noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała wiązało się z ryzykiem wystąpienia u nich kardiomiopatii przerostowej oraz większej podatności na infekcje [16]. Ten ostatni efekt uboczny związany jest ze zmniejszaniem się aktywności bakteriobójczej neutrofili pod wpływem sterydów [5,8].

Bardzo istotnym powikłaniem sterydoterapii, mającym wpływ na rozwój neurologiczny dziecka jest zahamowanie wzrostu i dojrzewania mózgu. Metaanaliza prowadzona przez Starka wykazała, że dzieci, które otrzymywały deksametazon w pierwszym tygodniu życia miały w 36 tygodniu PCA niższą masę ciała i mniejszy obwód głowy w porównaniu do dzieci nie leczonych sterydami [11]. Na podstawie metaanalizy opartej na wynikach 8 randomizowanych, kontrolowanych badań, obejmujących 679 noworodków Barrington stwierdziła u dzieci leczonych sterydami występowanie statystycznie częściej mózgowego porażenia dziecięcego, ślepoty, głuchoty (niedosłuch <60dB), a także opóźnienia rozwoju umysłowego ocenianego w skali Bayley Mental Development (BMD Index<70) [33,35]. Analiza dotyczyła noworodków, u których stosowano deksametazon lub hydrokortyzon, w okresie od 1 do 25 doby życia. Ryzyko wystąpienia mózgowego porażenia dziecięcego w populacji dzieci leczonych w okresie noworodkowym sterydami wynosiło 2,02-2,86%. Według Barrington na każde 30 noworodków otrzymujących sterydy, aż u 4 z nich wystąpiło mózgowe porażenie dziecięce w pierwszych 5 latach życia, a u 3 dalszych - opóźnienie rozwoju umysłowego [32,33,35]. Zastosowanie deksametazonu powodowało nie tylko wolniejszy w porównaniu z grupą kontrolną przyrost masy mózgu, ale także redukcję istoty szarej OUN nawet o 35% [30,35,36]. Badania obrazowe u tych dzieci wykazywały ponadto zahamowanie mielinizacji i uszkodzenie funkcji neuronów [8,9,10,11,16, 18,30,31,37].

Podjęmowano także próby stosowania sterydów w postaci wziewnej (budesonid, beclomethason). Nie potwierdzono jednak zmniejszenia częstości występowania objawów ubocznych przy tej formie podaży w porównaniu do stosowania parenteralnego [7,10]. Nie stwierdzono też przewagi w skuteczności sterydoterapii wziewnej w stosunku do dożylniej i to zarówno w postępowaniu profilaktycznym, jak i w leczeniu BPD [12,13,19,26,38,40].

Według aktualnych zaleceń ustalonych przez Committee on Fetus and Newborn of the American Academy of Pediatrics oraz Fetus and Newborn Committee of the Canadian Paediatric Society, jak i grupy badawczej Europe Against Immature Lung (EURAIL) opracowanych w latach 2002 i 2003, podaż sterydów wskazana jest obecnie jedynie u wcześniaków z najcięższą postacią niewydolności oddechowej w przebiegu BPD, stanowiącej zagrożenie dla życia. O ewentualnych konsekwencjach zastosowania deksametazonu powinni być poinformowani także rodzice leczonego dziecka [28, 29, 32, 35].

W związku z szybkim rozwojem neonatologii w Polsce w ostatnich latach liczba przeżywających wcześniaków z małą i bardzo małą urodzeniową masą ciała istotnie rośnie. Równocześnie wzrasta liczba dzieci z ciężką postacią BPD, w sposób przewlekły uzależnionych od tlenoterapii, czy wentylacji, a także wymagających długotrwałych hospitalizacji. U prawie połowy z nich dochodzi także do zahamowania rozwoju psychomotorycznego [15,18]. Stanowi to coraz większy problem terapeutyczny, społeczny, psychologiczny, a także ekonomiczny.

Powyższe dane wskazują na konieczność poszukiwania alternatywnych sposobów zarówno profilaktyki jak i leczenia BPD.

1.6 Pentoksyfilina – własności i podstawy zastosowania w profilaktyce BPD

Pentoksyfilina jest 1-(5-oksoheksylo)-3,7-dwumetyloksantyną. Podlega przemianie w wątrobie i w erytrocytach do siedmiu metabolitów, które są 3,7-dwumetyloksantynami i 3-metyloksantynami, i oznaczane są kolejno numerami od I do VII. Pentoksyfilina nie wiąże się z białkami osocza, dobrze natomiast rozpuszcza się w wodzie. Aż w 95% wydalana jest z ustroju przez nerki. Od około 60 lat pentoksyfilina stosowana jest jako lek poprawiający przepływ krwi przez naczynia krwionośne. Wykorzystywana jest w terapii chromania przestankowego, w zaburzeniach ukrwienia siatkówki czy w stanach niedokrwienia ośrodkowego układu nerwowego. Działanie pentoksyfiliny polega m.in. na nieselektywnym hamowaniu fosfodiesterazy – enzymu katalizującego reakcję degradacji cAMP do AMP w cytoplazmie komórek. Pod wpływem pentoksyfiliny dochodzi również do stabilizacji błony komórkowej i zmniejszenia wypływu jonów potasu z komórki. Działanie to ma korzystny wpływ m.in. na własności reologiczne krwinek zarówno czerwonych, jak i białych. Możliwość łatwiejszego odkształcania się erytrocytów ułatwia ich przepływ przez naczynia włosowate, których średnica wewnętrzna wynosi 3-4 um, czyli jest dwa razy mniejsza od średnicy samego erytrocyta. Pentoksyfilina

powoduje też zahamowanie agregacji erytrocytów i przez to zmniejszenie lepkości krwi. Poza wzrostem stężenia cAMP w erytrocytach dochodzi w nich również do podwyższenia zawartości 2,3-dwufosfo-glicerynianu. Związek ten ułatwia dysocjację oksyhemoglobiny i poprawia dyfuzję tlenu do tkanek. Własności powyższe mają istotne znaczenie w leczeniu zaburzeń perfuzji w naczyniach włosowatych, a co za tym idzie w poprawie utlenowania życiowo ważnych narządów, takich jak: nerki, mięsień sercowy, wątroba, przewód pokarmowy. Z kolei wpływ pentoksyfiliny na płytki krwi związany jest z hamowaniem przez ten lek aktywności cyklooksigenazy, co prowadzi do obniżenia syntezy tromboksanu – czynnika stymulującego agregację płytek i obkurczającego naczynia PAF (platelet activating factor). PAF w podobny sposób jak pentoksyfilina, zwiększa produkcję i uwalnianie prostacykliny (PGI₂) z komórek śródbłonna. Powoduje również wzrost poziomu cAMP w płytkach, dzięki czemu dochodzi do stabilizacji ich błony komórkowej, co zwiększa ich oporność na agregację. Ponadto pentoksyfilina przyspiesza syntezę i uwalnianie aktywatorów plazminogenu, a także zmniejsza aktywność antyplazminy, co w konsekwencji powoduje wzrost aktywności fibrynolitycznej osocza. Dodatkowo pentoksyfilina obniża poziom fibrynogenu. Działanie pentoksyfiliny na błony komórkowe makrofagów, monocytów i leukocytów wielojądrzastych ułatwia przepływ białych krwinek przez naczynia włosowate, poprzez zwiększenie ich zdolności do odkształcania, a także zapobiega nadmiernej agregacji i adhezji do ścian naczyń. Jak wiadomo aktywacja

leukocytów wielojądrzastych prowadzi zawsze do ich degranulacji i uwolnienia enzymów lizosomalnych. Powoduje to zwiększenie przepuszczalności ściany naczyń. Z kolei hamujące działanie pentoksyfiliny na aktywność oksydazy ksantynowej powoduje zmniejszenie ilości uwalnianego nadtlenu wodoru. Poprzez wzrost stężenia cAMP w cytoplazmie komórek śródbłonna pentoksyfilina hamuje aktywność metaloproteinaz zwiększających przepuszczalność ścian naczyń krwionośnych. Tak więc pentoksyfilina wykazuje działanie „uszczelniające” naczyń, co istotnie wpływa na ograniczanie procesu zapalnego. Pentoksyfilina działa również immunomodulująco. Lek ten hamuje uwalnianie z makrofagów prozapalnych cytokin takich: jak TNF alfa, IL-1, IL-6 oraz IL-8. Prawdopodobnie mechanizm działania pentoksyfiliny na poziomie komórki polega na podwyższeniu stężenia cAMP, co powoduje aktywację kinaz białkowych, które z kolei katalizują fosforylację różnych białek enzymatycznych w komórce. Następuje m.in. aktywacja białka CREB (cAMP response element- binding). Ponieważ jest ono jednym z czynników regulujących szybkość procesów transkrypcji, przypuszcza się, że na tej drodze dochodzić może do spowolnienia produkcji cytokin prozapalnych [45,46]. Równocześnie na podstawie przeprowadzonych badań wydaje się, iż zastosowanie pentoksyfiliny w innych niż BPD sytuacjach klinicznych może mieć korzystne działanie. W prospektywnych badaniach z podwójnie ślepą próbą stwierdzono korzystny efekt stosowania pentoksyfiliny na wyniki terapii sepsy u przedwcześnie urodzonych noworodków [22]. Lek ten

statystycznie znamienne zmniejszał stężenie TNF α w surowicy krwi. Ograniczał też ryzyko wystąpienia martwiczego zapalenia jelit (NEC necrotizing enterocolitis), niewydolności nerek, jak również DIC (disseminated intravascular coagulation) oraz śmiertelność w przebiegu sepsy, w porównaniu do grupy noworodków otrzymujących placebo [22]. W kolejnych badaniach wykazano, że pentoksyfilina, jak i jej metabolity M1-R i M1-S, łatwo penetrują przez barierę krew- płyn mózgowo-rdzeniowy. Stężenie metabolitu M1-S w płynie mózgowo-rdzeniowym dodatnio korelowało ze stężeniem TNF α , a ujemnie ze stężeniem IL-10. Fakt ten wskazuje na możliwość hamowania przez pentoksyfilinę odpowiedzi zapalnej, powstającej po wylewie dokomorowym również w OUN wcześniaka [78]. Wykazując właściwości charakterystyczne dla metyloksantyn, pentoksyfilina stymuluje również ośrodek oddechowy, działa rozszerzająco na oskrzela oraz zwiększa diurezę. Wydaje się, iż lek ten może znaleźć zastosowanie w profilaktyce BPD ponieważ, jak już wspomniano, w patomechanizmie powstawania tej choroby ważną rolę odgrywa zarówno nadmierne stężenie cytokin prozapalnych, takich jak TNF, IL1, IL8, IL6, jak i aktywacja leukocytów wielojądrzastych, które uwalniają enzymy proteolityczne i wytwarzają aktywne cząstki tlenu [21,22]. Na podstawie danych uzyskanych w badaniach wstępnych można przypuszczać, iż zastosowanie pentoksyfiliny w postaci inhalacji jako metody prewencji BPD może mieć istotny wpływ na ograniczenie występowania tej jednostki chorobowej [20,23].

Sprawdzenie tej hipotezy było celem mojej pracy.

2. Założenia i cel pracy.

Głównym celem pracy jest określenie skuteczności oraz bezpieczeństwa stosowania pentoksyfiliny w postaci inhalacji, w profilaktyce dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD).

Szczegółowe cele pracy to:

1. Porównanie częstości wystąpienia BPD po okresie profilaktycznego stosowania pentoksyfiliny w postaci inhalacji lub dożylnej podaży deksametazonu.
2. Określenie wpływu stosowania inhalacji z pentoksyfiliny lub dożylnej podaży deksametazonu na natężenie produkcji cytokin TNF α , IL 8, IL 10, IL 12.
3. Ocena stężenia pentoksyfiliny i jej trzech głównych metabolitów w surowicy krwi u noworodków otrzymujących inhalacje z pentoksyfiliny.
4. Porównanie zarówno czasu trwania, jak i parametrów wsparcia oddechowego, a także okresu tlenoterapii w grupach noworodków różniących się postępowaniem profilaktycznym.

5. Ocena częstości wystąpienia : zgonu, odmy opłucnowej, jak również powikłań neurologicznych takich, jak wylew do- i okołokomorowy oraz leukomalacja okołokomorowa u noworodków otrzymujących inhalacje z pentoksyfiliny lub otrzymujących dożylnie deksametazon zgodnie z protokołem postępowania profilaktycznego BPD.

3. Materiał i metodyka

Prospektywne, randomizowane, badanie kliniczne zostało przeprowadzone w Klinice Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Dotyczyło ono 147 przedwcześnie urodzonych noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała (VLBW), przyjętych do Kliniki pomiędzy 1 stycznia 2000 roku a 30 września 2003 roku. Badanie zostało zaaprobowane przez Komitet Etyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Każdorazowo uzyskiwano zgodę rodziców na włączenie noworodka do badania.

Głównym kryterium zakwalifikowania noworodka do badania była konieczność stosowania tlenoterapii $>30\%$, bądź wsparcia oddechowego w czwartej dobie po urodzeniu (72 godzinach od chwili urodzenia). Kryterium eliminującym były wady wrodzone, wrodzone infekcje grupy TORCH oraz wylewy do- i okołokomorowymi III i IV stopnia wg klasyfikacji Papile`a. Noworodki, u których z innych wskazań podano dożylnie pentoksyfilinę lub sterydy zostały również wykluczone z badania. Zgodnie z kryteriami włączenia, w czwartej dobie życia noworodki przydzielane były na drodze randomizacji do jednej z trzech badanych grup postępowania profilaktycznego. W związku z różnymi drogami podaży odmiennych leków, próba nie była zaślepią.

Grupę I stanowiły noworodki, które otrzymywały z pentoksyfilinę w postaci inhalacji. Dawki leku zależne były od zastosowania intubacji. U pacjentów zaintubowanych stosowano dawkę 10 mg/kg masy ciała/inhalację. U dzieci oddychających w systemie nCPAP lub wymagających jedynie tlenoterapii biernej dawka leku wynosiła 20 mg/kg masy ciała/inhalację.

Inhalacje wykonywano cztery razy na dobę, co sześć godzin, w kursach trzydniowych, począwszy od czwartej doby życia. Kolejne serie inhalacji powtarzano po siedmiu dniach od pierwszej dawki leku, przez pierwszy miesiąc życia. W razie poprawy stanu klinicznego noworodka, polegającej na odstawieniu wentylacji mechanicznej lub tlenoterapii biernej przy akceptowalnym poziomie saturacji 86-95%, rezygnowano z kolejnych serii inhalacji.

Pentoksyfilina (Polfilin, Polfa) rozcieńczana była solą fizjologiczną w stosunku 2:1 (2 ml soli fizjologicznej i 1 ml leku) i podawana przez 10 minut przy użyciu inhalatora pneumatycznego typu Porta - Neb (Medic - Aid Ltd., West Sussex, UK) do rurki intubacyjnej - w przypadku noworodków zaintubowanych, bądź przez maskę twarzową u dzieci oddychających samodzielnie.

Grupę II stanowiły noworodki otrzymujące dożylnie deksametazon w dawce 0,25 mg/kg masy ciała /dawkę w dwóch dawkach przez kolejne trzy doby począwszy od czwartej doby życia. Ograniczenie podaży deksametazonu do serii trzydniowych związane było z dążeniem do ograniczenia objawów

ubocznych sterydoterapii i oparte było na schemacie zaproponowanym przez Brozanskiego i wsp.

Jeżeli dziecko w dalszym ciągu wymagało wsparcia oddechowego lub tlenoterapii biernej, przy akceptowalnym poziomie saturacji 86-95%, trzydniowe serie podaży deksametazonu kontynuowane były w odstępach siedmiodniowych, przez pierwszy miesiąc życia.

Grupę III stanowiły noworodki, u których stosowano jedynie sól fizjologiczną w postaci inhalacji. Inhalacje wykonywane były według schematu czasowego identycznego jak przy stosowaniu inhalacji z pentoksyfiliny. Ich głównym celem było porównanie skuteczności inhalacji wykonywanych jedynie solą fizjologiczną z efektami uzyskiwanymi w trakcie inhalacji roztworem pentoksyfiliny.

Niezależnie od randomizacji u pacjentów z objawami zespołu zaburzeń oddechowych rutynowo podawano surfaktant (Survanta, Abbott, USA). Postępowaniem pierwszego rzutu w przypadku konieczności wsparcia oddechowego było stosowanie CPAP donosowego. Podobnie nCPAP stosowany był u pacjentów odzwyczajanych od respiratora. Stosowano głównie wentylację konwencjonalną przy pomocy wentylatora Bear Cub 750vs. W razie wystąpienia wskazań, używano też wentylacji wysokich częstotliwości

(wentylator Sensor Medics 3110A) oraz dodawano tlenek azotu do mieszanki oddechowej.

Na ocenę stanu klinicznego noworodka składała się analiza parametrów wentylacji w odniesieniu do wyników badania gazometrycznego krwi.

Zaliczano do nich: czas trwania oraz rodzaj wsparcia oddechowego, wysokość zapotrzebowania tlenowego wyrażona w %, a także wartość indeksu tlenowego zgodnie ze wzorem:

$$\text{MAP} \times \text{FiO}_2 \times 100 / \text{PaO}_2$$

MAP - mean airway pressure - średnie ciśnienie w drogach oddechowych,

FiO₂ - stężenie tlenu w mieszance wdychanej,

PaO₂ - ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej;

W przebiegu wentylacji akceptowano wartości PaO₂ 50 – 70 mmHg (66 – 93 hPa) oraz PaCO₂ 40 – 55 mmHg (53-73 hPa).

Równowagę kwasowo-zasadową we krwi tętniczej lub kapilarnej oznaczano za pomocą aparatu Rapidlab firmy Chiron Diagnostics.

W przypadku stwierdzenia klinicznych i radiologicznych objawów zapalenia płuc rutynowo pobierano BAL. Leczenie rozpoczynano od antybiotykoterapii empirycznej. W leczeniu antybiotykami pierwszego rzutu

były ampicylina i tobramycyna. Następnie rodzaje antybiotyków ustalano bezpośrednio po identyfikacji patogenu i określeniu jego lekowrażliwości.

W trakcie postępowania profilaktycznego pobierana była krew od noworodków do badania stężenia cytokin takich, jak: $\text{TNF}\alpha$, IL-8, IL-10 oraz IL-12, w ilości 1,2 ml. Próbkę uzyskiwano przez nakłucie żyły lub bezpośrednio z linii tętniczej przed pierwszą i natychmiast po ostatniej inhalacji pentoksyfiliną, placebo lub przed pierwszą i po ostatniej w danej serii, podaży deksametazonu. Objętość osocza potrzebna do oznaczenia każdej z cytokin wynosiła 30 μl . Osocze od elementów morfotycznych odwirowywane było przez 10 minut z prędkością 2000 obrotów/minutę i przechowywane następnie w temperaturze -70°C . Stężenia cytokin w osoczu oznaczane były przy pomocy testów immunoenzymatycznych BioSource – ELISA w Zakładzie Immunologii Klinicznej Katedry Immunologii Klinicznej i Transplantologii CMUJ.

Minimalne wykrywane stężenia wynosiły odpowiednio: 1,7 pg/ml dla $\text{TNF}\alpha$, < 5,0 pg/ml dla IL-8, <1,0 pg/ml dla IL-10 oraz 2,0 pg/ml dla IL-12.

Krew do oznaczania poziomu pentoksyfiliny w osoczu pobierana była od pacjenta bezpośrednio po ostatniej inhalacji pierwszej serii. Objętość surowicy wymagana do wykonania poszczególnych oznaczeń wynosiła 0,2 ml. Do oznaczania poziomu zarówno pentoksyfiliny, jak i jej trzech metabolitów wykorzystana została metoda wysokociśnieniowej chromatografii ciekłej.

Wysokociśnieniowy chromatograf cieczowy (Spectra-Physics, San Jose, USA) składa się z pompy zapewniającej stałe ciśnienie rozpuszczalnika transportującego (tzw. eluenta) (IsoChrom LC Pump), injektora (Rheodyne Model 7125) oraz detektora UV (Model Spectra 100) dla długości fal 275 nm. Analizowana próbka osocza, o objętości 0,2 ml, rozpuszczona w eluencie, przepuszczana była przez kolumnę wypełnioną złożem krzemionkowym – 100mg/1ml. Najniższe wykrywane stężenia dla pentoksyfiliny i jej metabolitów wynosi odpowiednio 20 i 10 ng/ml. Dokładność metody określana jest przez zakres odchylenia mniejszego niż 10% dla poszczególnych oznaczeń. Nie stwierdzono współdziałania pomiędzy składnikami rozdzielanej mieszaniny i innymi lekami standartowo stosowanymi w trakcie badania.

Próbki krwi uzyskiwane były zawsze przy okazji pobierania krwi do badań biochemicznych lub bakteriologicznych.

Pierwotnym punktem końcowym badania było wystąpienie dysplazji oskrzelowo-płucnej. Wtórnymi punktami końcowymi były następujące powikłania stanu klinicznego: odma opłucnowa, przetrwałego przewodu tętniczego, leukomalacja okołokomorowa, wylewy do- i okołokomorowe.

Odma opłucnowa rozpoznawana była na podstawie zdjęcia radiologicznego klatki piersiowej. Ultrasonografia przezciemienna była badaniem przesiewowym u wszystkich pacjentów. Wylewy do- i okołokomorowe diagnozowane były zgodnie z klasyfikacją Papile`a. W razie śmierci pacjenta rozpoznanie wylewu dokomorowego potwierdzone było w badaniu

autopsyjnym. Leukomalacja okołokomorowa definiowana była jako rozległe cystowate obszary jedno- lub obustronne. Rozpoznanie przetrwałego przewodu tętniczego potwierdzone było szczegółowym badaniem echokardiograficznym. W przypadku obecności klinicznych i echokardiograficznych objawów przecieku lewo-prawego współistniejącego z istotnymi objawami oddechowymi, wdrażano postępowanie farmakologiczne. Jeżeli nie przynosiło ono oczekiwanych efektów, wykonywano ligację chirurgiczną przetrwałego przewodu tętniczego.

3.1 Metody statystyczne

Wszystkie obliczenia statystyczne dokonywane były przy pomocy pakietu statystycznego Statistica for Windows 6,0 (StatSoft, Tulsa, OK.). Dla porównania grup i określenia znamienności statystycznej stosowano testy: chi-kwadrat z dwoma stopniami swobody oraz dokładny test Fishera. Dla porównania masy ciała i wieku płodowego w trzech grupach użyto testu t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych. Zastosowano również test Kruskala-Wallisa ANOVA lub test Manna-Whitney'a przy rozkładzie innym niż normalny dla określenia różnic pomiędzy wartościami skali Apgar, płci, wartości punktacji w skali CRIB, wystąpienia zapalenia płuc, posocznicy, obecności Ureaplazmy w BAL, jak również prenatalnej podaży steroidów i obecności infekcji u matek w poszczególnych trzech grupach. Test Kruskala-

Wallisa ANOVA użyto również do porównania stężeń cytokin w surowicy. Analiza regresji logistycznej służyła dla stwierdzenia związku między analizowanymi czynnikami, a wystąpieniem dysplazji oskrzelowo płucnej. Wartość $p < 0.05$ uznawana była za znamienne.

4. Wyniki

Uczestnicy badania.

150 noworodków zostało zrandomizowanych do trzech badanych grup. Nazwano je odpowiednio: grupą PTX, grupą DX i grupą placebo.

W grupie placebo w trzech przypadkach została wycofana zgoda rodziców w okresie pierwszych 2 tygodni po rozpoczęciu badania. Spośród 147 pozostałych noworodków 34 dzieci zmarło przed ustaleniem rozpoznania dysplazji oskrzelowo-płucnej, przy czym w grupie PTX było to 10 noworodków, natomiast w każdej z pozostałych 2 grup stwierdzono zgon w 12 przypadkach. Różnice dotyczące śmiertelności pomiędzy grupami nie były znamienne statystycznie. We wszystkich grupach najczęstszą przyczyną zgonu było krwawienie do- i okołokomorowe. I tak w grupie PTX krwawienie stwierdzono w czasie autopsji u 6 dzieci (60%), w grupie DX u 7 pacjentów (58,3%), a w grupie placebo – u 8 dzieci (66,7%). W pozostałych przypadkach przyczyną zgonu było niedotlenienie okołoporodowe (3 noworodki) oraz infekcja bakteryjna (9 noworodków) lub wirusowa (1 noworodek).

Kolejnych 16 noworodków zostało wyłączonych z dalszej analizy z powodu zastosowania u nich w przebiegu hospitalizacji bądź PTX, bądź deksametazonu, ze wskazań innych niż postępowanie profilaktyczne mające na celu

zmniejszenie ryzyka wystąpienia BPD. Dotyczyło to 3 noworodków w grupie PTX, 5 dzieci w grupie DX oraz w 8 pacjentów w grupie placebo.

Czworo dzieci przed ustaleniem rozpoznania BPD przekazano do oddziału chirurgicznego.

U pozostałych 97 pacjentów przeprowadzono analizę uzyskanych wyników. Ostatecznie grupa PTX składała się z 37 pacjentów, grupa DX – 33, a grupa placebo zawierała 27 dzieci.

W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące urodzeniowej masy ciała oraz wieku płodowego noworodków w grupie PTX.

Badane noworodki (n=37)	Średnia	Minimum	Maximum	Odchylenie standardowe
Urodzeniowa masa ciała (g)	1056	580	1500	254
Wiek płodowy (tyg.cięży)	28,4	25,0	31	1,6

Tabela 1. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy PTX.

W grupie PTX było 13 noworodków płci męskiej (35%) i 24 noworodków płci żeńskiej (65%).

W tabeli 2 przedstawiono dane dotyczące punktacji w skali Apgar oraz w skali CRIB (clinical risk index for babies) dzieci w grupie PTX.

Badane noworodki n=37)	Mediana	Minimum	Maximum
Punktacja Apgar (po 1 min)	6	1	8
Punktacja CRIB	3	0	10

Tabela 2. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB noworodków w grupie PTX.

Analizie poddano również poniżej wymienione czynniki mogące mieć wpływ na wystąpienie BPD: obecność *Ureaplasmy urealyticum* w aspiracie z dróg oddechowych, zapalenie płuc, sepsa, obecność PDA, zapalenie błon płodowych, prenatalne zastosowanie sterydów.

W grupie PTX u 5 (14%) noworodków stwierdzono w aspiracie z dróg oddechowych obecność *Ureaplasmy urealyticum*.

U 20 (54%) noworodków w tej grupie rozpoznawano zapalenie płuc, z czego u 11(30%) wrodzone, a u 9 (24%) nabyte.

Z kolei sepsę stwierdzono u 15 (40%) noworodków, przy czym u 1 (3%) dziecka była to infekcja wrodzona, u 14 (38%) – nabyta. We wszystkich

wymienionych przypadkach była to sepsa o łagodnym przebiegu i nie zachodziła konieczność dożylnego stosowania PTX.

Czterech (11%) pacjentów w tej grupie wymagało chirurgicznego zamknięcia przewodu tętniczego.

Z danych dotyczących przebiegu ciąży należy nadmienić, iż zapalenie błon płodowych stwierdzono w 11 przypadkach. Sterydoterapię prenatalną zastosowano u 22 matek.

W tabeli 3 przedstawiono dane dotyczące urodzeniowej masy ciała oraz wieku płodowego noworodków grupy DX.

Badane noworodki (n=33)	Średnia	Minimum	Maximum	Odchylenie standardowe
Urodzeniowa masa ciała (g)	1072	680	1410	199
Wiek płodowy (tyg.cięży)	28,5	25,0	33	2,0

Tabela 3. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy DX.

W grupie DX było 16 (51,5%) noworodków płci męskiej i 17 (49,5%) - płci żeńskiej.

W tabeli 4 przedstawiono dane dotyczące punktacji w skali Apgar oraz w skali CRIB noworodków w grupie DX.

Badane noworodki n=33)	Mediana	Minimum	Maximum
Punktacja Apgar (po 1 min)	7	1	8
Punktacja CRIB	1	0	8

Tabela 4. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB noworodków w grupie DX.

Podobnie jak w grupie PTX, także i w grupie DX poddano analizie identyczne czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia BPD.

I tak u 6 (18%) noworodków stwierdzano obecność Ureaplazmy urealyticum w aspiracie treści oskrzeli.

Z kolei u 19 (57%) noworodków rozpoznawano zapalenie płuc, z czego w 8 (33%) przypadkach była to postać wrodzona, a w 11 (33%) nabyta.

Sepsę rozpoznawano u 15 (45%) noworodków, przy czym u 4 (12%) dzieci była to postać wrodzona, a u 11 (33%) – nabyta (late onset sepsis).

W grupie tej 4 (12%) pacjentów wymagało chirurgicznego zamknięcia przewodu tętniczego.

Z danych dotyczących przebiegu ciąży należy nadmienić, iż zapalenie błon płodowych stwierdzono w 8 (24%) przypadkach. Natomiast sterydoterapię prenatalną zastosowano u 22 matek.

W tabeli 5 przedstawiono dane dotyczące urodzeniowej masy ciała oraz wieku płodowego noworodków grupy placebo.

Badane noworodki (n=27)	Średnia	Minimum	Maximum	Odchylenie standardowe
Urodzeniowa masa ciała (g)	1137	690	1500	222
Wiek płodowy (tyg.ciąży)	28,8	24,0	32	2,05

Tabela 5. Rozkład urodzeniowej masy ciała i wieku płodowego noworodków grupy placebo.

W grupie placebo było 15(56%) noworodków płci męskiej i 12 (44%) noworodków płci żeńskiej.

W tabeli 6 przedstawiono dane dotyczące punktacji w skali Apgar oraz w skali CRIB u noworodków w grupie placebo.

Badane noworodki n=27)	Mediana	Minimum	Maximum
Punktacja Apgar (po 1 min)	6	0	8
Punktacja CRIB	2	0	9

Tabela 6. Rozkład punktacji w skali Apgar oraz punktacji w skali CRIB w grupie placebo.

Podobnie u noworodków w grupie placebo, również analizowano czynniki zwiększające ryzyko wystąpienia BPD.

U 4 (15%) noworodków stwierdzono obecność Ureaplazmy urealyticum w aspiracie treści z oskrzeli.

U 15 (56%) noworodków rozpoznano zapalenie płuc, z czego u 8 (30%) postać wrodzoną, a u 7 (26%) nabytą.

Sepsę rozpoznano u 9 (33%) noworodków, przy czym we wszystkich przypadkach była to sepsa nabyta.

Pięciu (18,5%) pacjentów wymagało chirurgicznego zamknięcia przewodu tętniczego.

Z danych dotyczących przebiegu ciąży należy nadmienić, iż zapalenie błon płodowych stwierdzono w 7 (26%) przypadkach. Sterydoterapię prenatalną zastosowano u 20 matek, których noworodki zostały zakwalifikowane do grupy placebo.

Do porównania masy ciała i wieku płodowego w powyższych trzech grupach użyto testu t-Studenta dla zmiennych niepowiązanych:

	Grupa PTX N=37	p-value	Grupa DX N=33	p-value	Grupa Placebo N=27	p-value PTX vs. placebo
Masa ciała (g)	580-1500 śr.1056 SD:254	0,77	680-1410 śr.1072 SD: 199	0,23	690-1500 śr.1137 SD:222	0,19
Wiek płodowy (tyg.)	25-31 28,4 SD:1,6	0,89	25-33 śr.28,5 SD:2,0	0,52	24-32 śr.28,8 SD:2.05	0,5

Tabela 7. Porównanie masy ciała i wieku płodowego w grupach PTX, DX i placebo

Różnice między badanymi trzema grupami noworodków w zakresie płci, punktacji w skali Apgar, obecności zapalenia błon płodowych u matki oraz prenatalnej podaży sterydów analizowano przy pomocy z testu Kruskala-Wallisa ponieważ rozkład danych był odmienny od normalnego.

	Grupa PTX N=37	p- value	Grupa DX N=33	p- value	Grupa Placebo N=27	p-value PTX vs. placebo
Płeć (m/ż)	13/24	0,26	16/17	0,58	15/12	0,1
Apgar	1-8 śr.6	0,2	1-8 śr.7	0,39	0-8 śr.6	0,66
Zapalenie błon płodowych	11 (30%)	0,77	8 (24%)	0,88	7 (26%)	0,9
Prenatalna podaż sterydów	22 (59%)	0,43	22 (67%)	0,68	20 (74%)	0,26

Tabela 8. Porównanie płci, punktacji Apgar, częstości zapalenia błon płodowych i częstości prenatalnej podaży sterydów w grupach PTX, DX i placebo.

Częstość występowania czynników ryzyka powstawania BPD przedstawia tabela 9.

	Grupa PTX N=37	p- value	Grupa DX N=33	p- value	Grupa Placebo N=27	p-value PTX vs placebo
CRIB	0-10 śr.3	0,08	0-8 śr.1	0,36	0-9 śr.2	0,35
Ureaplasma w BAL (+)	5 (14%)	0,41	6 (18%)	0,72	4 (15%)	0,72
Wrodzone zapalenie płuc	11 (30%)		8 (24%)		8 (30%)	
Nabyte zapalenie płuc	8 (21%)	0,15	13 (39%)	0,25	7 (26%)	0,84
Ligacja PDA	4 (10,8%)		4 (12%)		5 (18,5%)	
Sepsa wrodzona	1 (3%)		4 (12%)		0 (0%)	
Sepsa nabyta	14 (38%)		11 (33%)		9 (33%)	
Sepsa- łącznie	15 (40%)	0,91	15 (45%)	0,53	9 (33%)	0,61

Tabela 9. Porównanie częstości występowania czynników ryzyka powstawania BPD w grupach PTX, DX i placebo.

U wszystkich pacjentów stwierdzono statystycznie znamiennej korelację między punkcją w skali CRIB a ryzykiem wystąpienia BPD (iloraz szans : 19,4; 95% przedział ufności, 2,69 do 139,8; $p=0,0013$). Stwierdzenie wrodzonej bądź nabytej postaci zapalenia płuc statystycznie znamiennej korelowało z częstością wystąpienia BPD (iloraz szans: 4,35; 95% przedział ufności 1,0 do 18,9; $p=0,046$). Natomiast spośród innych czynników ryzyka zarówno prenatalna podaż sterydów, obecność *Ureaplasma urealyticum* w BAL-u, jak i wystąpienie sepsy, nie wpływało statystycznie znamiennej na ryzyko wystąpienia BPD. Należy podkreślić, że w wypadku sepsy, infekcja spowodowana została gronkowcami koagulazo-ujemnymi, a przebieg choroby był łagodny, bez zaburzeń perfuzji oraz nie wymagał zastosowania PTX, zgodnie z protokołem leczenia sepsy obowiązującej w Klinice.

Ryzyko wystąpienia BPD.

Nie stwierdzano statystycznie znamiennej różnic pomiędzy noworodkami w analizowanych grupach w odniesieniu do częstości stosowania wsparcia oddechowego, i to zarówno w postaci nCPAP-u, jak i wentylacji mechanicznej. Spośród 37 noworodków w grupie PTX 18 dzieci wymagało intubacji, a u 12 pacjentów stosowano wsparcie w systemie n-CPAP. Z kolei w

grupie DX 13 dzieci wymagało zastosowania mechanicznej wentylacji, a u 11 noworodków wykorzystano do poprawy wentylacji zestaw n-CPAP.

Natomiast w grupie placebo 12 dzieci było wentylowanych mechanicznie, a u 9 dzieci stosowano n-CPAP.

BPD rozpoznano u 12 noworodków grupy PTX (32,4%), u 12 dzieci w grupie DX (36,4%) oraz u 16 w grupie placebo (59%).

Różnica w częstości wystąpienia BPD pomiędzy noworodkami w grupie PTX i grupie DX, a dziećmi w grupie placebo były statystycznie znamienne: ryzyko względne (RR) wynosi 25% (odchylenie standardowe (SD): 0,35; 95% przedział ufności (CI) 0,14 do 0,9; $p=0,03$).

Przy porównywaniu danych uzyskanych u pacjentów w grupie PTX z analogicznymi wynikami w grupie placebo stwierdzono, że ryzyko względne (RR) wynosi 27% (odchylenie standardowe (SD): 0,32; przy 95% przedziale ufności (CI) 0,11 do 0,94, $p=0,039$).

Z kolei porównanie wyników uzyskanych w grupie DX do analogicznych danych w grupie placebo przedstawiało się następująco: ryzyko względne (RR) wynosiło 23% (odchylenie standardowe (SD) :0,39; przy 95% przedziale ufności: 0,14 do 1,14, $p=0,07$).

Porównywanie uzyskanych danych w trzech grupach noworodków równocześnie, wykazało, iż znamienne rzadziej stwierdzano BPD jedynie u pacjentów w grupie PTX, u których urodzeniowa masa ciała zawierała się w

przedziale pomiędzy 1000g a 1500g (χ^2 na drugim stopniu swobody = 7,79; $p=0,20$).

Zmiana stężenia cytokin surowicy

Stężenia TNF, IL8, IL10, IL12 przed podażą pierwszej dawki PTX, deksametazonu lub placebo przedstawia tabela 10.

CYTOKINA(pg/ml)	PTX	DEX	PLACEBO
TNF	min: 0,0 max: 419,9 mediana: 22,5	min: 0,0 max: 78,0 mediana: 1,0	min: 0,0 max: 46,0 mediana: 0,0
IL-8	min: 0,0 max: 239,0 mediana: 40,9	min: 0,0 max: 343,1 mediana: 34,7	min: 0,0 max: 207,1 mediana: 25,4
IL-10	min: 0,0 max: 72,3 mediana: 0,0	min: 0,0 max: 18,3 mediana: 0,0	min: 0,0 max: 34,2 mediana: 0,0
IL-12	min: 0,0 max: 705,0 mediana: 100,0	min: 0,0 max: 834,9 mediana: 166,5	min: 0,0 max: 275,2 mediana: 78,4

Tabela 10. Porównanie stężeń cytokin w surowicy przed pierwszą podażą dawki PTX, DX i placebo.

Zmiana stężenia cytokin we wszystkich analizowanych grupach, oznaczane w surowicy krwi u noworodków po podaniu ostatniej dawki leków bądź placebo pierwszej serii różniły się statystycznie niezamienne w porównaniu do wartości mierzonych przed interwencją. Analiza wyników przeprowadzona przy wykorzystaniu regresji logistycznej nie wykazała korelacji między wystąpieniem BPD, a wartością stężenia cytokin w surowicy krwi oznaczanych przed pierwszą serią podaży leków, bądź placebo, ani po jej zakończeniu.

Stężenie pentoksyfiliny w surowicy.

Poziomy pentoksyfiliny w surowicy oraz jej trzech metabolitów (M1, M4, M5) oznaczane bezpośrednio po zastosowaniu ostatniej dawki leku w pierwszej serii podaży przedstawiono w tabeli 11.

ng/ml	PTX	M-I	M-IV	M-V
minimum	0,0	0,0	0,0	0,0
maximum	2961,0	3196,0	353,0	575,0
mediana	414,0	230,0	6,0	96,0

Tabela 11. Porównanie stężeń PTX i jej metabolitów bezpośrednio po zastosowaniu ostatniej dawki leku pierwszej serii.

Stężenie PTX i jej metabolitów wykazywało wyraźną zmienność wartości u analizowanych pacjentów. Stwierdzono statystycznie znamiennej korelację pomiędzy stężeniem PTX w surowicy krwi, a poziomem metabolitu M1 po serii podaży PTX w postaci inhalacji (R SPEARMAN 0,48; p=0,029). Średnia wartość stężenia PTX w surowicy była zawsze statystycznie wyższa w porównaniu do analogicznych danych dotyczących metabolitów M4 i M5 (odpowiednio p=0,002; p=0,034).

W tabeli 12 przedstawiono występowanie powikłań stwierdzanych u noworodków wszystkich grup w czasie przeprowadzonego badania klinicznego

	Ilość pacjentów w grupie PTX	Ilość pacjentów w grupie DEX	Ilość pacjentów w grupie placebo
Odma opłucnowa	2 (5,4%)	1 (3%)	2 (7,4%)
Leukomalacja okołokomorowa	3 (8%)	2 (6%)	2 (7,4%)
Wylew do- i okołokomorowy III, IV st.	2 (5,4%)	3 (9%)	3 (11%)
Konieczność ligacji PDA	5 (13,5%)	5 (15%)	3 (11%)

Tabela.12 Częstość występowania powikłań u noworodków wszystkich grup randomizacyjnych.

Jedynym efektem ubocznym stosowanych inhalacji PTX było występowanie u części pacjentów zaburzeń tolerancji karmienia. Odsetek ten jednak nie przekraczał 15%.

5. Dyskusja.

W etiologii dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD), określanej też mianem przewlekłej choroby płuc (CLD), istotnym czynnikiem jest nieadekwatna do bodźca odpowiedź zapalna. Chociaż ostatnio w patogenezie tej choroby zwraca się szczególną uwagę na udział mechanizmów hamujących alweolaryzację, to jednak wśród nich odczyn zapalny stanowi nadal ważną przyczynę uszkodzenia prawidłowego procesu prowadzącego do wykształcenia się pęcherzyków płucnych. Znaczna jest ilość i różnorodność czynników, które według wielu autorów mogą być przyczyną prozapalnej, niekontrolowanej odpowiedzi tkanek płodu i noworodka. Zjawisko to dotyczy przede wszystkim noworodków urodzonych przedwcześnie, a stopień ich niedojrzałości statystycznie znamienne koreluje z częstością występowania choroby. Oprócz zakażenia, powodowanego głównie mikroorganizmami bakteryjnymi, odpowiedź zapalną może stymulować nadmierne ciśnienie w drogach oddechowych, generowane przez osoby czy urządzenia podejmujące wentylację noworodka zarówno bezpośrednio po urodzeniu, jak i w okresie hospitalizacji w oddziale neonatologicznym. To zjawisko określane mianem volutraumy i barotraumy prowadzi do tzw. „shear stress”, czyli nadmiernego i zbyt szybkiego rozciągania niedojrzałych struktur płucnych i następowego niedotlenienia, które jest ważnym stymulatorem powstających zmian zapalnych. Jak wykazano w wielu

badaniach eksperymentalnych, a także klinicznych, wentylacja zbyt dużymi objętościami oddechowymi czy stosowanie zbyt wysokiego ciśnienia szczytowego, prowadzi do aktywacji makrofagów płucnych i następowego wydzielania enzymów proteolitycznych, wśród których elastaza jest relatywnie dobrze poznanym czynnikiem uszkodzającym. Końcowym efektem nadmiernej odpowiedzi zapalnej jest włóknienie elementów strukturalnych, a także uszkodzenie fragmentów elastycznych płuc. W tak zmienionych płucach stwierdza się zmniejszenie podatności, zwiększenie oporów w drogach oddechowych, nadreaktywność oskrzeli i oskrzelików na różne czynniki zewnętrzne i endogenne, co powoduje, iż wypadkową tych zaburzeń jest niewydolność oddechowa, często okresowo nasilająca się, na przykład w okresie infekcji czy nadmiernego stresu.

W latach 80-tych XX wieku, wprowadzono zarówno do postępowania profilaktycznego, jak i terapii BPD podaż kortykosteroidów. Ich działanie polegające na stabilizacji błon komórkowych, hamowaniu migracji leukocytów do krążenia płucnego, ograniczaniu aktywacji granulocytów, a także zmniejszaniu szybkości syntezy prostaglandyn, leukotrienów i innych czynników prozapalnych zapobiegało w pewnej części przypadków powstawaniu dysplazji oskrzelowo-płucnej. Zmniejszało też nasilenie objawów klinicznych rozpoznanej choroby. Jednakże niepokojące wyniki takiego postępowania, uzyskiwane w badaniach eksperymentalnych, spowodowały na początku 2000 roku przeprowadzenie metaanalizy danych uzyskanych w

badaniach klinicznych. Szczególną uwagę zwrócono na wynikające ze stosowania kortykosteroidów, ryzyko uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego i zaburzenia rozwoju neurologicznego dzieci. W opracowaniach Hallidaya i Ehrenkranza wykazano wyraźne zagrożenie rozwojem mózgowego porażenia dziecięcego u tych niemowląt, u których kortykosteroidy stosowano we wczesnym okresie po urodzeniu. Barrington i wsp. wręcz zawęziła wskazania do sterydoterapii w pierwszych tygodniach życia wyłącznie do sytuacji ratujących życie. A zatem istnieje pilna potrzeba zastosowania zarówno w profilaktyce, jak i terapii, leków o mniejszych skutkach ubocznych, które wykazywałyby istotne działanie przeciwzapalne.

Do grupy takich preparatów należą inhibitory fosfodiesteraz, które zwiększając stężenie w komórce c-AMP, hamują jej odpowiedź zapalną. W związku ze znacznym doświadczeniem klinicznym w badaniach wcześniejszych, wykazujących korzystny efekt przeciwzapalny nieselektywnej pochodnej metyloksantyn – pentoksyfiliny w leczeniu sepsy u noworodków, zdecydowano aby wykorzystać ten lek do profilaktyki BPD. Liczne wyniki badań na zwierzętach potwierdzały korzystny wpływ tego leku na hamowanie odpowiedzi zapalnej, ograniczaniu procesu włóknienia, zmniejszaniu aktywacji leukocytów i redukcji uwalniania przez nie elastazy. Dotychczas, poza pracą pilotażową, nie wykonywano podobnych badań klinicznych. Badania na zwierzętach natomiast wykazały protekcyjną rolę PTX w stosunku do płuc zarówno w przebiegu VILI (volume-induced lung injury), jak i infekcji bakteryjnej [25].

Wyniki badania pilotażowego stały się podstawą do prospektywnej obserwacji klinicznej, której celem było porównanie skuteczności deksametazonu i pentoksyfiliny w prewencji BPD. W celu możliwie maksymalnego ograniczenia systemowego działania pentoksyfiliny, podjęto próbę podaży jej w drodze inhalacji, co w badaniu pilotażowym przyniosło korzystny rezultat.

Populacja dzieci badanych obejmowała wyłącznie noworodki z bardzo małą urodzeniową masą ciała (VLBW) i skrajnie małą urodzeniową masą ciała (ELBW), u których ten problem jest najbardziej widoczny. Brak istotnych różnic w zakresie urodzeniowej masy ciała oraz dojrzałości mierzonej w tygodniach ciąży, a także w stanie klinicznym po urodzeniu ocenianym w skali Apgar pomiędzy badanymi grupami, pozwala na wyciągnięcie wniosków dotyczących skuteczności tej metody postępowania klinicznego.

Badane grupy noworodków PTX, DX i grupę placebo analizowano pod względem częstości wystąpienia czynników ryzyka BPD takich, jak: mała urodzeniowa masa ciała, wiek płodowy, zapalenie błon płodowych, zapalenie płuc u noworodka, obecność drożnego przewodu tętniczego (PDA), wystąpienie sepsy. Również i w tym zakresie nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic pomiędzy grupami badanych dzieci. Randomizowane grupy były też jednorodne pod względem konieczności zastosowania wsparcia oddechowego w postaci nCPAP bądź wentylacji mechanicznej.

Natomiast na uwagę zasługuje fakt, iż wartości CRIB były najwyższe w grupie PTX, w porównaniu do odnośnych wartości w grupie DX i grupie

placebo. Pamiętając o istotnej statystycznie, dodatniej korelacji pomiędzy wartością oceny w skali CRIB i częstością wystąpienia BPD należy podkreślić, że u noworodków w grupie PTX występowało większe w porównaniu do pacjentów w grupach DX i placebo, ryzyko zachorowania na BPD [23,79,80,81,82,].

Wielu autorów podkreśla wyraźną zależność pomiędzy wystąpieniem zapalenia płuc u noworodka VLBW, a zwiększonym ryzykiem zachorowania na BPD [83,84,85,86]. Wyniki niniejszych badań potwierdzają fakt, iż obecność zarówno wrodzonego, jak i nabytego zapalenia płuc statystycznie znamienne zwiększała częstość wystąpienia BPD u badanych noworodków.

W przypadkach sepsy nie stwierdzono takiej korelacji, co można wyjaśnić tym, iż noworodki z ciężką postacią choroby, wymagające zgodnie z protokołem kliniki, dożylniej podaży PTX, zostały wyłączone z badania. Natomiast u pacjentów analizowanych chorujących na sepsę, przebieg kliniczny tej jednostki chorobowej był łagodny, bez znacznie nasilonej odpowiedzi zapalnej.

W badanych grupach noworodków nie potwierdzono statystycznie znamiennego wpływu na wystąpienie BPD takich czynników jak zapalenie błon płodowych, bądź prenatalna podaż sterydów a także obecność Ureaplasmy urealiticum w BAL-u.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż trzydniowe inhalacje z PTX nie wpływały statystycznie znamienne na poziom TNF w surowicy krwi,

w taki sposób, jak to obserwowano w przypadku dożylniej podaży PTX [22]. Można to wyjaśnić prawdopodobnie około czterokrotnie niższym stężeniem PTX w surowicy po podaży PTX drogą inhalacji, w porównaniu do stężenia PTX stwierdzanego po podaży dożylniej. PTX podawana w inhalacjach nie wpływała również na wartość poziomu prozapalnej IL-12 w osoczu, odmiennie od działania deksametazonu, który redukował stężenie IL-12 statystycznie znamienne.

Wyniki niniejszej pracy wskazują również, że u noworodków, tak, jak i u dorosłych pacjentów, PTX metabolizowana jest m.in. do aktywnego metabolitu M-1. Jednak w porównaniu z dorosłymi aktywność metaboliczna wątroby przedwcześnie urodzonego noworodka wynosi zaledwie 20-70%. Stosunkowo wysoki poziom metabolitu M-1 w osoczu wcześniaka wskazuje na równoczesny pozawątrobowy metabolizm PTX, np. w płucach czy w erytrocytach. Podobnie jak w poprzednim badaniu, stosunek stężeń PTX / M-1 w osoczu wynosił 0,56, natomiast w przypadku podaży PTX drogą inhalacji odpowiednia wartość wyniosła 1,27 [22]. Może to wskazywać na różny metabolizm PTX w zależności od drogi podania leku. Tym niemniej M-1 był także metabolitem dominującym. Dawkowanie PTX oparte było na wcześniejszych, pilotażowych badaniach prowadzonych w Klinice Neonatologii CMUJ [20]. W związku z możliwością wystąpienia objawów niepożądanych, zastosowano możliwie niską dawkę PTX, którą uzależniano od typu wentylacji i możliwej z tym związanej, różnicy w biodostępności (nCPAP vs. wentylacja zastępcza). Na obecnym

etapie badań nie jest znane optymalne dawkowanie PTX, jednakże dawki proponowane w badaniu były efektywne i bezpieczne u noworodków VLBW. Nie wiadomo, dlaczego zastosowanie PTX w inhalacjach ograniczyło statystycznie znamienne ryzyko wystąpienia BPD tylko dzieci w przedziale wagowym 1000-1500g. Być może grupa pacjentów z masą ciała <1000g była zbyt mała, aby uzyskać znamienne statystycznie różnice, bądź w związku z przeciwzapalnym działaniem PTX, lepiej na jej zastosowanie zareagowali pacjenci z nasilonym odczynem zapalnym w płucach, u których niedojrzałość odgrywała nieco mniejszą rolę w wystąpieniu BPD. Wiadomym jest, że podaż tego leku nie mogła bezpośrednio przyspieszyć procesu alweolaryzacji, a jedynie ograniczyć czynniki zapalne, które spowalniają tempo dojrzewania płuc.

W profilaktyce BPD, poza możliwym korzystnym działaniem PTX, należy także podkreślić wagę stosowania oszczędzającego modelu wentylacji. Zasadą takiej wentylacji jest unikanie dużych objętości oddechowych oraz stosowanie niskich wartości ciśnienia końcowo-wydechowego [88,89]. Przyjmując strategię permissywnej, umiarkowanej hyperkapni, permissywnej umiarkowanej hipoksemii, a także ograniczania wskazań do intubacji, obecnie coraz częściej wykorzystuje się do wspomaganie wentylacji u noworodków VLBW system n-CPAP (nasal continuous positive airway pressure) lub n-IPPV (nasal intermittent positive pressure ventilation). Wczesne stabilizowanie ciśnienia w drogach oddechowych przy pomocy nCPAP-u pozwala ograniczyć stosowanie zastępczej wentylacji mechanicznej [91,92,93,94]. Nie ma nadal

przekonywujących dowodów, aby elektywna HFOV (high frequency oscillatory ventilation) przeważała nad elektywną wentylacją konwencjonalną u noworodków przedwcześnie urodzonych z zespołem zaburzeń oddechowych (ZZO) [95,95]. Bezspornie konieczne są dalsze badania nad modelem jak najmniej urazowej wentylacji, zwłaszcza dla grupy noworodków najwyższego ryzyka. Wyodrębnienie tej grupy być może będzie możliwe w przyszłości na podstawie badań nad uwarunkowaniami genetycznymi, dotyczącymi białek surfaktantu (SPs-A,B,C,D), polimorfizmu cytokin pro- i przeciwzapalnych czy też regulacji mechanizmów ich produkcji [97,98,99,100,101,102].

Na profilaktykę BPD należy spojrzeć całościowo. Proponowanymi działaniami są tu: zapobieganie porodom przedwczesnym poprzez poprawę opieki położniczej, optymalizacja metod wentylacji, skuteczne, pozbawione działań ubocznych leczenie przeciwzapalne. Natomiast celem postępowania lekarskiego powinna być poprawa nie tylko przeżywalności, ale i jakości życia noworodków przedwcześnie urodzonych, narażonych na wystąpienie BPD.

6. Wnioski

Pentoksyfilina może obniżać częstość występowania BPD u noworodków VLBW i może być alternatywą do zastosowania sterydów, które wywołują poważne objawy uboczne.

Badania jednak powinny być kontynuowane, aby ustalić optymalne dawkowanie PTX w profilaktyce BPD.

7. Streszczenie

Według nowej definicji proponuje się przyjęcie następujących kryteriów w rozpoznaniu dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD): konieczność podaży tlenu w 36 tygodniu wieku postkonceptyjnego oraz łączny okres ciągłej tlenoterapii dłuższy niż 27 dni, ze współistnieniem charakterystycznych dla BPD zmian radiologicznych. Uszkodzenie struktury płuc noworodka przedwcześnie urodzonego spowodowane zarówno podażą zbyt dużych objętości oddechowych, jak i infekcją, wyzwała równocześnie procesy naprawcze, które manifestują się odczynem zapalnym. Mają one na celu nie tylko zniszczenie patogenu, ale także regenerację powstałych uszkodzeń. Główną rolę w generowaniu odpowiedzi zapalnej odgrywają makrofagi i leukocyty wielojądrzaste. Jeżeli bodziec uszkadzający płuca jest zbyt silny lub jego działanie przedłuża się, dochodzi do niekontrolowanej, nadmiernej stymulacji makrofagów i produkcji nie tylko wzrostowych czynników regenerujących, ale także tych, które potęgują reakcję zapalną i nasilają destrukcję tkanki. Prawdopodobnie niedojrzały organizm wcześniaka nie jest w stanie uruchomić mechanizmów hamujących i wyprodukować wystarczającej ilości czynników przeciwzapalnych. Wzrost syntezy nie tylko prozapalnych cytokin, ale także proteaz oraz toksycznych produktów przemiany tlenu, powoduje dalsze uszkodzenie płuc. Do chwili obecnej metody zarówno profilaktyki, jak i

postępowania terapeutycznego w BPD nie są wystarczająco skuteczne, a często powodują także powstanie licznych objawów ubocznych. W latach 70-tych i 80-tych. XXw. najczęstszym postępowaniem profilaktycznym w BPD, rekomendowanym przez Amerykańską Akademię Pediatrii była wczesna, pourodzeniowa podaż sterydów. Jak wiadomo leki te działają przeciwzapalnie, przeciwobrzękowo, hamują migrację leukocytów i proces fagocytozy oraz odkładanie włókniaka w zmienionej chorobowo tkance śródmiąższowej płuc. Jednakże stosowanie sterydów prowadzi nie tylko do ograniczenia częstości występowania BPD, ale też powoduje poważne objawy uboczne. Szczególnie dotyczy to stosowania tych leków w pierwszych czterech dniach życia. Z kolei działanie pentoksyfiliny (PTX) polega m.in. na nioselektywnym hamowaniu fosfodiesterazy – enzymu katalizującego reakcję degradacji cAMP do AMP w cytoplazmie komórek. Lek ten hamuje uwalnianie z makrofagów cytokin prozapalnych takich, jak TNF alfa, IL-1, IL-6 oraz IL-8, działa więc przeciwzapalnie, co zostało potwierdzone w prospektywnych badaniach z podwójnie ślełą próbą w terapii sepsy u przedwcześnie urodzonych noworodków. Na podstawie danych uzyskanych w badaniach wstępnych nad profilaktyką BPD można przypuszczać, iż zastosowanie PTX w postaci inhalacji jako metody prewencji BPD może mieć istotny wpływ na ograniczenie występowania tej jednostki chorobowej.

Głównym celem pracy jest określenie skuteczności oraz bezpieczeństwa stosowania pentoksyfiliny w postaci inhalacji, w profilaktyce

dysplazji oskrzelowo-płucnej (BPD). Prospektywne, randomizowane, badanie kliniczne zostało przeprowadzone w Klinice Neonatologii Katedry Ginekologii i Położnictwa Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Dotyczyło ono 150 przedwcześnie urodzonych noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała (VLBW), przyjętych do Kliniki pomiędzy 1 stycznia 2000 roku a 30 września 2003 roku. Badanie zostało zaaprobowane przez Komitet Etyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Każdorazowo uzyskiwano zgodę rodziców na włączenie noworodka do badania.

Głównym kryterium zakwalifikowania noworodka do badania była konieczność stosowania tlenoterapii $>30\%$, bądź wsparcia oddechowego w czwartej dobie po urodzeniu (72 godzinach od chwili urodzenia). Zgodnie z kryteriami włączenia, w czwartej dobie życia noworodki przydzielane były na drodze randomizacji do jednej z trzech badanych grup postępowania profilaktycznego. W związku z różnymi drogami podaży odmiennych leków, próba nie była zaślepią.

Grupę I stanowiły noworodki, które otrzymywały PTX w postaci inhalacji.

U pacjentów zaintubowanych stosowano dawkę 10 mg/kg masy ciała/inhalację.

U dzieci oddychających w systemie nCPAP lub wymagających jedynie tlenoterapii biernej dawka leku wynosiła 20 mg/kg masy ciała/inhalację.

Inhalacje wykonywano cztery razy na dobę, co sześć godzin, w kursach trzydniowych, począwszy od czwartej doby życia. Grupę II stanowiły

noworodki otrzymujące dożylnie deksametazon w dawce 0,25 mg/kg masy ciała/ dawkę w dwóch dawkach przez kolejne trzy doby począwszy od czwartej doby życia. Grupę III stanowiły noworodki, u których stosowano sól fizjologiczną w postaci inhalacji wykonywanych według schematu czasowego identycznego jak przy stosowaniu inhalacji z pentoksyfiliny.

W trakcie postępowania profilaktycznego pobierana była od noworodków krew do badania stężenia cytokin takich, jak: TNF α , IL-8, IL-10 oraz IL-12, oraz krew do oznaczania poziomu pentoksyfiliny, jak i jej trzech metabolitów w osoczu.

Wszystkie obliczenia statystyczne dokonywane były przy pomocy pakietu statystycznego Statistica for Windows 6,0 (StatSoft, Tulsa, OK.).

150 noworodków zostało zrandomizowanych do trzech badanych grup. Nazwano je odpowiednio: grupą PTX, grupą DX i grupą placebo.

W grupie placebo w trzech przypadkach została wycofana zgoda rodziców w okresie pierwszych 2 tygodni po rozpoczęciu badania. Spośród 147 pozostałych noworodków 34 dzieci zmarło przed ustaleniem rozpoznania BPD, przy czym w grupie PTX było to 10 noworodków, natomiast w każdej z pozostałych 2 grup stwierdzono zgon w 12 przypadkach. Różnice dotyczące śmiertelności pomiędzy grupami nie były znamienne statystycznie. We wszystkich grupach najczęstszą przyczyną zgonu było krwawienie do- i okołokomorowe. I tak w grupie PTX krwawienie stwierdzono w czasie autopsji u 6 dzieci (60%), w grupie DX u 7 pacjentów (58,3%), a w grupie placebo – u 8 dzieci (66,7%).

W pozostałych przypadkach przyczyną zgonu było niedotlenienie okołoporodowe (3 noworodki) oraz infekcja bakteryjna (9 noworodków) lub wirusowa (1 noworodek). Kolejnych 16 noworodków zostało wyłączonych z dalszej analizy z powodu zastosowania u nich w przebiegu hospitalizacji PTX, bądź deksametazonu, ze wskazań innych niż postępowanie profilaktyczne mające na celu zmniejszenie ryzyka wystąpienia BPD. Dotyczyło to 3 noworodków w grupie PTX, 5 dzieci w grupie DX oraz w 8 pacjentów w grupie placebo.

Czworo dzieci przed ustaleniem rozpoznania BPD przekazano do oddziału chirurgicznego. U pozostałych 97 pacjentów przeprowadzono analizę uzyskanych wyników. Ostatecznie grupa PTX składała się z 37 pacjentów, grupa DX – 33, a grupa placebo zawierała 27 dzieci.

Nie stwierdzano statystycznie znamienych różnic pomiędzy noworodkami w analizowanych grupach w odniesieniu do częstości stosowania wsparcia oddechowego i to zarówno w postaci nCPAP-u, jak i wentylacji mechanicznej. Przy porównywaniu danych uzyskanych u pacjentów w grupie PTX z analogicznymi wynikami w grupie placebo stwierdzono, że ryzyko względne (RR) wynosi 27% (odchylenie standardowe (SD): 0,32; przy 95% przedziale ufności (CI) 0,11 do 0,94, $p=0,039$).

Z kolei porównanie wyników uzyskanych w grupie DX do analogicznych danych w grupie placebo przedstawiało się następująco: ryzyko względne (RR) wynosiło 23% (odchylenie standardowe (SD) :0,39; przy 95% przedziale ufności: 0,14 do 1,14, $p=0,07$).

Porównywanie uzyskanych danych w trzech grupach noworodków równocześnie wykazało, iż znamienne rzadziej stwierdzano BPD jedynie u pacjentów w grupie PTX, u których urodzeniowa masa ciała zawierała się w przedziale pomiędzy 1000g a 1500g (VLBW) (χ^2 na drugim stopniu swobody = 7,79; $p=0,20$).

Nie stwierdzono żadnych poważnych działań niepożądanych związanych z zastosowaniem PTX.

PTX może obniżać częstość występowania BPD u noworodków VLBW i może być alternatywą do zastosowania sterydów, które wywołują poważne objawy uboczne. Badania jednak powinny być kontynuowane, aby ustalić optymalne dawkowanie PTX w profilaktyce BPD.

Summary

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is characterized by continuous oxygen requirement for at least 27 days and oxygen dependency in the 36th week of postmenstrual age. It is generally accepted that the pathogenesis of BPD mainly involves pulmonary inflammation. The postnatal use of systemic steroids was widely accepted in late the 1990s but it was associated with neuromotor disability. Experimental trials in treatment of BPD with pentoxifylline, a non-selective phosphodiesterase inhibitor, demonstrated its ability to inhibit synthesis of tumor necrosis factor (TNF). In addition, other pro-inflammatory cytokines: interleukin - 6, interleukin - 8 and interleukin – 12 were also inhibited. Clinical trials on sepsis in premature neonates showed that treatment with pentoxifylline improved the survival rate and attenuated the clinical symptoms of disease. Preliminary clinical observations suggested a significant reduction in oxygen requirements after nebulized pentoxifylline administration in the treatment of BPD.

The objective of this study was to evaluate the effectiveness and safety of nebulized pentoxifylline when compared with systemic dexamethasone prevention of BPD in very low birth weight (VLBW) infants.

Methods. One hundred and forty seven VLBW infants were randomly assigned to three groups: PTX group, DX group and placebo group. Entry criteria were defined as a need of oxygen administration or ventilatory support on the fourth

day of life. Pentoxifylline was administered with a nebulizer every 6 hours on three consecutive days (a single course) in a dose of 20mg/kg when infants were breathing spontaneously or 10 mg/kg when they needed ventilatory support. Infants in the placebo group were given the same schedule of inhalation as in the PTX group. Dexamethasone was given every 12 hours on three days in a dose of 0,25mg/kg. If the infant continued to need ventilatory support (mechanical ventilation or n-CPAP) or required oxygen supplementation to obtain acceptable saturation (86-95%) the drug regiment was repeated every seven days until the diagnosis of BPD was established.

Data analysed. During the trial the following data was collected: birth weight, gestational age, sex, Apgar score, clinical risk index for babies (CRIB), the occurrence of congenital or nosocomial infection in the mother, Ureaplasma positive broncho-alveolar lavage (BAL), antenatal steroid administration. The medical management of respiratory insufficiency in all groups was comparable. The primary end point was the incidence of BPD. The secondary outcomes were: rates of pneumothorax, ligation of patent ductus arteriosus (PDA), periventricular leukomalacia (PVL) and intraventricular hemorrhage (IVH).

Results. From the analysed 147 infants, 34 died before the diagnosis of BPD could be established. There was no significant difference in mortality among the three groups. 16 infants were excluded from farther analysis because pentoxifylline or steroids were used in the treatment outside the trial and

4 infants with necrotizing enterocolitis (NEC) were transferred for surgery. Finally 97 infants left for analysis. BPD developed in 12 of the 37 infants in the PTX group, in 12 of the 33 infants in the DX group, and in 16 of the 27 infants in the placebo group. Prophylaxis with pentoxifylline and dexamethasone reduced the incidence of BPD when compared with placebo.

The respective data obtained from the PTX group versus the placebo group are as follows: difference in risk, 27%; OR: 0,32; CI: 0,11- 0,94; p=0,039. The results for the DX group versus the placebo group are: difference in risk, 23%; OR: 0,39; CI: 0,14- 1,14; p=0,07.

Conclusion. Nebulized pentoxifylline reduces the risk of BPD in VLBW group of infants and may be a potential alternative to steroids.

9. Piśmiennictwo

- 1 . Pandya HC, Kotecha S. Chronic lung disease of prematurity: clinical and pathophysiological correlates. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001;56(3):270-5
2. Vaucher Yvonne E. Dysplazja oskrzelowo-płucna: ciągłe wyzwanie. *Ped po Dypl* 2003 ;7(1):21-35
3. AAP Committee on Fetus and Newborn CPS Fetus and Newborn Committee. Postnatal Corticosteroids to Treat or Prevent Chronic Lung Disease in Preterm Infant *Pediatrics*. *Pediatrics* ;109(2):330-338, 2002
4. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW Early postnatal (<96 hours) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD001146.
5. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW Moderately early (7-14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD001144
6. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW Delayed (>3 weeks) postnatal corticosteroids for chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD001145
7. Shah SS, Ohlsson A, Halliday H, Shah VS Inhaled versus systemic corticosteroids for the treatment of chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD002058.
8. Ballabh P, Simm M, Kumari L, Califano C. Respiratory burst activity in

bronchopulmonary dysplasia and changes with dexamethasone. *Pediatr Pulmonol* 2003; 35: 392-399

9. Auten R.L, Ekekezie I.I Blocking leukocyte influx and function to prevent chronic lung disease of prematurity. *Pediatr Pulmonol* 2003; 35: 335-341

10. Rozycki H.J, Byron P.R, Elliot G.R, Carrol T, Gutcher G.R Randomized controlled trial of three different doses of aerosol beclomethasone versus systemic dexamethasone to promote extubation in ventilated premature infants. *Pediatr Pulmonol* 2003; 35: 375-383

11. Stark A.R i wsp Adverse effects of early dexamethasone treatment in extremely low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2001; 344:95-101

12. Dimitriou G., Greenough A., Giffin F.J.,Kavadia V. Inhaled versus systemic steroids in chronic oxygen dependency of preterm infants. *Eur J Pediatr* 1997; 156: 51-55

13. Suchomski S.J., Cummings J.J Randomized trial of inhaled budesonide vs intravenous steroid in ventilator dependent preterm infant. *Pediatr Res* 1996; 39:247

14. Bancalari E., Abdenour G.E., Feller R. Et al Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr* 1979; 95:819

15. Davis J.M., Rosenfeld W.N. Chronic Lung Disease; *Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn*, Fifth Edition, ed. by Avery G.B., Fletcher M.A., MacDonald M.G., J.B.Lippincot Company, Philadelphia, 1999: 509-531

16. Bensky A.S., Kothadia J.M., Covitz W. Cardiac effects of dexamethasone in very low birth weight infants. *Pediatrics* 1999; 97:818
17. Roger F.S. Early postnatal dexamethason therapy for the prevention of chronic lung disease Hot Topics in Neonatology, Washington 1999, Conference materials, 223
18. Shinwell E.S., Karplus M., Reich D. and al. Early postnatal dexamethasone therapy is associated with increased incidence of cerebral palsy Hot Topics in Neonatology, Washington 1999, Conference materials, 237
19. Halliday H.L. Clinical trials of postnatal corticosteroids: inhaled and systemic. *Biology of Neonate* 1999; 76:29-40
20. Lauterbach R., Szymura-Olesiak J. Nebulized pentoxifylline in successful treatment of five premature neonates with bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Pediatr* 1999; 158:607-610
21. Horst S.A.J., Wagenaar G.T.M., de Boer E. and al. Pentoxifylline reduces fibrin deposition and prolongs survival in neonatal hyperoxic lung injury. *J Appl Physiol* 2004 ; 10:1152
22. Lauterbach R., Pawlik D., Kowalczyk D. and al. Effect of the immunomodulating agent, pentoxifylline, in the treatment of sepsis in prematurely delivered infants: a placebo- controlled, double- blind trial. *Crit Care Med* 1999; 27: 807-814
23. Lauterbach R., Pawlik D., Zembala M. and al. Pentoxifylline in prevention and treatment of chronic lung disease. *Acta Paediatr Suppl* 2004; 93:20-22

24. Bancalari E., Claure N., Sosenko I.R.S. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. *Seminars in Neonatology* 2003; 8:1/63-71
25. Coimbra R., Melbostad H, Hoyt D.B. Effects of phosphodiesterase inhibition on the inflammatory response after shock: role of pentoxifylline. *J Trauma* 2004; 56:442-449
26. Halliday H.L., Patterson C.C., Halahakoon C.W. A multicenter, randomized open study of early corticosteroid treatment (OSECT) in preterm infants with respiratory illness: comparison of early and late treatment and of dexamethasone and inhaled budesonide. *Pediatrics*; 2001; 107(2):232
27. Sweet D.G., Halliday H.L., Warner J.A. Airway remodelling in chronic lung disease of prematurity. *Paediatr Respir Rev* 2002 ; 3:140-6
28. Barrington J.K. Hazards of systemic steroids for ventilator-dependent preterm infants: What would a parent want? *Canadian Medical Association Journal*; 2001; 165:33-5
29. Truffert P, Empana J.P., Breart G. Treatment strategies for bronchopulmonary dysplasia with postnatal corticosteroids in Europe: the EURAIL survey. *Acta Paediatr*; 2003; 92: 948-51
30. Shah S.S, Ohlsson A., Halliday H. Inhaled versus systemic corticosteroids for preventing chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm neonates. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007 Oct 17;(4):CD002057. Review

31. Grier D.G, Halliday H.L. Corticosteroids in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003 ; 8:83-91
32. Halliday H.L. Early postnatal dexamethasone and cerebral palsy. *Pediatrics*; 2002 ; 109(6):1168-70
33. Barrington K.J. The adverse neuro-developmental effects of postnatal steroids in the preterm infant: a systematic review of RCTs. *BMC Pediatr*; 2001;1(1):1
35. Barrington K.J. Postnatal steroids and neurodevelopmental outcomes: A problem in the making. *Pediatrics*; 2001 ; 107:1425-7
36. Murphy B.P., Inder T.E., Huppi P.S. et al. Impaired cerebral cortical gray matter growth after treatment with dexamethasone for neonatal chronic lung disease. *Pediatrics* 2001; 107: 217-222
37. Halliday H.L. Postnatal dexamethasone: what is the real cost-benefit ratio? *Acta Paediatr* 2003; 92: 888-889
38. Lister P., Iles R., Shaw B. Inhaled steroids for neonatal chronic lung disease *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;(3):CD002311
39. Denjean A., Paris-Liado J., Zupan V. et al. Inhaled salbutamol and beclomethasone for preventing broncho-pulmonary dysplasia: a randomised double-blind study. *Eur J Pediatr*,1999; 157(11): 926-31
40. Marinelli K.A., Burke G.S., Herson V.C. Effects of dexamethasone on blood pressure in premature infants with bronchopulmonary dysplasia. *JPediatr* 1997; 130:594

41. Kotecha S. Cytokines in chronic lung disease of prematurity. *Eur J Pediatr.*1996 Aug; 155 Suppl 2: 14-17
42. Speer CP. Inflammatory mechanisms in neonatal chronic lung disease. *Eur J Pediatr.* 1999 Dec; 158 Suppl 1: 18-22
43. May M, Strobel P., Preissshofen T. et al. Apoptosis and proliferation on lungs of ventilated and oxygen treated preterm infants.*Eur Respir J.*2004;23(1):113-21
44. Welty S.E. Czy stres tlenowy może być przyczyną rozwoju dysplazji oskrzelowo-płucnej? *Pediatr po Dypl* 2000; 4/6:62-69
45. Smalling Jr. WE., Suguihara C., Huang J. et al. Protective effect of pentoxifylline on volume-induced lung injury in newborn piglets. *Biol Neonate* 2004; 86(1): 15-21
46. Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2005;116(6):1353-60.
47. Horst S.A.J., Wagenaar G.T.M., de Boer E. et al. Pentoxifylline reduces fibrin deposition and prolongs survival in neonatal hyperoxic lung injury. *J Appl Physiol* 2004; 10:1152
48. Henderson-Smart DJ., Bhuta T., Cools F. et al Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 18;(3): CD000104. Review.

49. Weinstein MR, Peters ME., Sadek M et al. A new radiographic scoring system for bronchopulmonary dysplasia. Newborn Lung Project. *Pediatr Pulmonol* 1994; 18(5):284-9
50. Kubota J, Ohki Y, Inoue T et al. Ultrafast CT scoring system for assessing bronchopulmonary dysplasia: reproducibility and clinical correlation. *Radiat Med.* 1998 ; 16(3):167-74
51. Oppenheim C, Mamou-Mani T, Sayegh N et al. Bronchopulmonary dysplasia: value of CT in identifying pulmonary sequelae. *AJR Am J Roentgenol.* 1994; 163(1):169-72
52. Cunha GS, Mezzacappa-Filho F, Ripeiro JD Risk factors for bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight newborns treated with mechanical ventilation in the first week of life. *J Trop Pediatr.* 2005;51(6):334-40
53. Hermes-DeSantis ER, Clyman RI Patient ductus arteriosus: pathophysiology and management. *J Perinatol* 2006; 26 Suppl 1:S14-8
54. Malviya M, Ohlsson A, Shah S Surgical versus medical treatment with cyclooxygenase inhibitors for symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Jan 23;(1):CD003951. Review.
55. Schmidt B, Roberts RS, Fanaroff A et al. Indometacin prophylaxis, patent ductus arteriosus, and risk of bronchopulmonary dysplasia: further analyses from the trial of indomethacin prophylaxis in preterms (TIPP). *Pediatr.*2006 ; 148(6):730-734

56. Ohlsson A, Walia R, Shah S. Ibuprofen for the treatment of patient ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. The Cochrane Database of Systematic Reviews 2005; (4):CD003481.
57. Viscardi RM, Atamas SP, Luzina IG et al. Antenatal *Ureaplasma urealyticum* respiratory tract infection stimulates proinflammatory, profibrotic responses in the preterm baboon lung. *Pediatr Res.* 2006 Aug;60(2):141-6
58. Viscardi RM, Manimtim WM, He JR et al. Disordered pulmonary myofibroblast distribution and elastin expression in preterm infants with *Ureaplasma urealyticum* pneumonitis. *Pediatr Dev Pathol.*2006;9(2):143-51
59. Viscardi RM, Manimtim WM, Sun CC et al. Lung pathology in premature infants with *Ureaplasma urealyticum* infection. *Pediatr Dev Pathol.* 2002; 5(2):141-50.
60. Li YH, Brauner A, Jonsson B et al. *Ureaplasma urealyticum*-induced production of proinflammatory cytokines by macrophages. *Pediatr Res.*2000 ; 48(1):114-9.
61. Manimtim WM, Hasday JD, Hester L et al. *Ureaplasma urealyticum* modulates endotoxin-induced cytokine release by human monocytes derived from preterm and term newborns and adults. *Infect Immun.*2001;69(6):3906-15.
62. Yoder BA, Coalson JJ, Winter VT et al. Effects of antenatal colonization with *ureaplasma urealyticum* on pulmonary disease in the immature baboon. *Pediatr Res* 2003;54(6):797-807.

63. Da Silva O, Gregson D, Hammerberg O. Role of *Ureaplasma urealyticum* and *Chlamydia trachomatis* in development of bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J.*1997 ; 16(4):364-9
64. Kruger T, Baier J. Induction of neutrophil chemoattractant cytokines by *Mycoplasma hominis* in alveolar type II cells. *Infect Immun.*1997;65(12):5131-6
65. Abele-Horn M, Genzel-Boroviczeny O, Uhlig T et al. *Ureaplasma urealyticum* colonization and bronchopulmonary dysplasia: a comparative prospective multicentre study. *Eur J Pediatr.*1998; 157(12):1004-11
66. Baier RJ, Loggins J, Kruger TE. Monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 are increased in bronchopulmonary dysplasia: relation to isolation of *Ureaplasma urealyticum*. *J Investig Med.*2001;49(4): 362-9
67. Benstein BD, Crouse DT, Shanklin DR, Ourth DD. *Ureaplasma* in lung.2.Association with bronchopulmonary dysplasia in premature newborns. *Exp Mol Pathol.*2003 ; 75(2):171-7
68. Yanamandra K, Boggs P, Loggins J et al. Interleukin-10-1082 G/A polymorphism and risk of death or bronchopulmonary dysplasia in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Pulmonol.*2005 ;39(5):426-32
69. Baier RJ, Majid A, Parupia H et al. CC chemokine concentrations increase in respiratory distress syndrome and correlate with development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol.*2004 ;37(2):137-48

70. Cordero L, Ayers LW, Davis K. Neonatal airway colonization with gram-negative bacilli association with severity of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Infect Dis J.*1997;16(1):18-23
71. Schelonka RL, Katz B, Waites KB et al. Critical appraisal of the role of *Ureaplasma* in the development of bronchopulmonary dysplasia with metaanalytic techniques. *Pediatr Infect Dis J.*2005; 24(12):1033-9
72. Ruf B, Klauwer D, Reiss I et al. Colonisation of the airways with *ureaplasma urealyticum* as a risk factor for bronchopulmonary dysplasia in VLBW infants? *Z Geburtshilfe Neonatol.*2002;2006(5):187-92
73. Pierce RA, Albertine KH, Starcher BC et al. Chronic lung injury in preterm lambs: disordered pulmonary elastin deposition. *Am J Physiol.* 1997; 272:452-60
74. Viscardi RM, Atamas SP, Luzina IG et al. Antenatal *Ureaplasma urealyticum* respiratory tract infection stimulates proinflammatory, profibrotic responses in the preterm baboon lung. *Pediatr Res.* 2006 ;60(2):141-6.
75. Viscardi R, Manimtim W, He JR et al. Disordered pulmonary myofibroblast distribution and elastin expression in preterm infants with *Ureaplasma urealyticum* pneumonitis. *Pediatr Dev Pathol.*2006;9(2):143-51
76. Schelonka RL, Waites KB. *Ureaplasma* infection and neonatal lung disease. *Semin Perinatol.* 2007 Feb;31(1):2-9.

77. Waites KB, Katz B, Schelonka RL Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens. *Clin Microbiol Rev.*2005;18(4):757-89
78. Lauterbach L, Kowalczyk D, Warchoń J et al. Does intravenously administered pentoxifylline influence plasma and cerebrospinal fluid cytokines concentrations? *J Ped Neonatal*, 2005;2(1):NT1-4
79. Coalson JJ. Pathology of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006 30(4):179-84
80. Szymankiewicz M, Gadzinowski J, Di Renzo GC et al. Is pulmonary function measurement helpful in early prediction of bronchopulmonary dysplasia? *Prenatal and Neonatal Med*, 2000;5(5):316-321
81. Gagliardi L, Bellu R, Rusconi F et al. Antenatal steroids and risk of bronchopulmonary dysplasia: a lack of effect or a case of overadjustment? *Paediatr Perinat Epidemiol*, 2007;21(4):347-353
82. Peristein P, Atherton H, Donovan E et al. Physician variations and the ancillary costs of neonatal intensive care . *Health Service Research*, 1997;1:1-3
83. Cunha GS, Mezzacappa-Filho F, Ribeiro JD. Risk factors for bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight newborns treated with mechanical ventilation in the first week of life. *J Trop Pediatr*, 2005 ;51(6):334-40
84. Chen Y, Han YK, Ye ZZ et al. Risk factors for bronchopulmonary dysplasia in neonates with respiratory distress syndrome. *Zhongguo Dang Dai* 2007;9(1):15-8

85. Korhonen P, Tammela O, Koivisto AM et al. Frequency and risk factors in bronchopulmonary dysplasia in a cohort of very low birth weight infants. *Early Hum Dev*;1999;54(3):245-58
86. Chess PR, D'Angio CT, Pryhuber GS Pathogenesis of bronhopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*2006 ;30(4):171-8
87. Bancalari E, del Moral T Bronchopulmonary dysplasia and surfactant. *Biol Neonate*2001 ; 80 Suppl1:7-13
88. Ambalavanan N, Carlo WA Ventilatory strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30(4):192-9
89. van Kaam AH, Rimensberger PC Lung-protective ventilation strategies in neonatology: what do we know-what do we need to know? *Crit Care Med* 2007;35(3):925-31
90. Tapia JL, Agost D, Alegria A et al. NEOCOSUR Collaborative Group. Bronchopulmonary dysplasia: incidence, risk factors and resource utilization in a population of South American very low birth weight infants. *J Pediatr* 2006;82(1):15-20
91. Lopez Maestro M, Pallas Alonso CR, Munoz Labian MC et al. The use of the continuous positive airway pressure for early stabilization in very low birthweight infants. *An Pediatr (Barc)* 2006 ;64(5):422-7
92. Gitterman MK, Fusch C, Gitterman AR et al. Early nasal continuous positive airway pressure treatment reduces the need for intubation in very low birth weight infants. *Eur J Pediatr* 1997;156(5):438

93. Schaub J. Bronchopulmonary dysplasia (BPD) and CPAP use on newborn and premature infants. II. Management of CPAP respiration. *Kinderkrankenschwester* 2005;24(2):47-53
94. Latini G, De Felice C, Presta G et al. Minimal handling and bronchopulmonary dysplasia in extremely low-birth-weight infants. *Eur J Pediatr* 2003; 162(4):227-9
95. Henderson-Smart DJ, Cools F, Bhuta T et al. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (4):CD000104.
96. Henderson-Smart DJ, Bhuta T, Cools F et al. Elective high frequency oscillatory ventilation versus conventional ventilation for acute pulmonary dysfunction in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007 18;(3)
97. Pavlovic J, Papagaroufalis C, Xanthou M et al. Genetic variants of surfactant proteins A,B,C, and D in bronchopulmonary dysplasia. *Dis Markers* 2006; 22(5-6):277-91
98. Akram Khan M, Kuzma-O'Reilly B, Brodsky NL et al. Site-specific characteristics of infants developing bronchopulmonary dysplasia. *J Perinatology* 2006 ;26(7):428-35
99. Kazzi SN, Kim UO, Quasney MW et al. Polymorphism of tumor necrosis factor-alpha and risk and severity of bronchopulmonary dysplasia among very low birth weight infants. *Pediatrics* 2004;114(2):e243-8

100. Yanamandra K, Boggs P, Loggins J et al. Interleukin-10-1082 G/A polymorphism and risk of death or bronchopulmonary dysplasia in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Pulmonol* 2005 ;39(5):426-32
101. Garingo A, Tesoriero L, Cayabyab R et al. Constitutive IL-10 expression by lung inflammatory cells and risk for bronchopulmonary dysplasia. *PediatrRes* 2007 ;61(2):197-202
102. Dembinski J, Behrendt D, Martini R et al. Modulation of pro- and anti-inflammatory cytokine production in very preterm infants. *Cytokine* 2003 21; 21(4):200-6.
103. Weber B, Borkhardt A, Stoll-Becker S et al. Polymorphisms of surfactant protein A genes and the risk of bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Turk J Pediatr* 2000;42(3):181-5
104. Hallman M, Marttila R, Pertile R et al. Genes and environment in common neonatal lung disease. *Neonatology* 2007;91(4):298-302
105. Jobe AH, Bancalari E Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1723-1729