

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Kardiologie der Medizinischen
Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Strain- und Strain-Rate-Messungen bei Frühgeborenen mit einem
Geburtsgewicht von unter 1500 g in den ersten 28 Lebenstagen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Sven Helfer
aus Sindelfingen

Datum der Promotion:

11. Dezember 2015

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung der ausgewählten Publikationen	1
1.1	Abstract (deutsch)	1
1.2	Abstract (english)	2
1.3	Einleitung und Zielsetzung	3
1.4	Methodik	4
1.4.1	Patienten	4
1.4.2	Messprotokoll und Datenerhebung	4
1.4.3	Offline-Analyse der Bilder	5
1.4.4	Inter- und Intra-Operator-Variabilität	7
1.4.5	Statistische Methoden	7
1.5	Ergebnisse	8
1.5.1	Patientenkollektiv, klinische und konventionelle echokardiografische Parameter	8
1.5.2	Optimale Auswertungsparameter für Tissue-Doppler-basierte Strain und Strain-Rate	8
1.5.3	Entwicklung von Strain und Strain-Rate in den ersten 28 Lebenstagen	9
1.5.4	Einfluss eines persistierenden Ductus arteriosus auf Strain und Strain Rate	9
1.5.5	Einfluss einer sich entwickelnden bronchopulmonalen Dysplasie auf Strain und Strain-Rate	9
1.5.6	Reproduzierbarkeit der Parameter	9
1.6	Diskussion	10
1.6.1	Optimierung der Messparameter, Auswertbarkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen	10
1.6.2	Entwicklung der Messungen in den ersten 28 Lebenstagen	10
1.6.3	Einfluss von persistierendem Ductus arteriosus und bronchopulmonaler Dysplasie	11
1.6.4	Limitationen	11
1.6.5	Fazit	12
1.7	Literaturverzeichnis	13
2	Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	15
3	Eidesstattliche Versicherung	17
4	Druckexemplare der Ausgewählten Publikationen	19
4.1	Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Reproducibility and Optimization of Analysis Parameters of Tissue Doppler-Derived Strain and Strain Rate Measurements for Very Low Birth Weight Infants.	19
4.2	Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Tissue Doppler-Derived Strain and Strain Rate during the First 28 Days of Life in Very Low Birth Weight Infants.	29

4.3	Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühler C, Schmitz L. Development of Left Ventricular Longitudinal Speckle Tracking Echocardiography in Very Low Birth Weight Infants with and without Bronchopulmonary Dysplasia during the Neonatal Period.	39
5	Lebenslauf	53
6	Komplette Publikationsliste	55
6.1	Zeitschriftenbeiträge	55
6.2	Kongressbeiträge	55
7	Danksagung	57

1 Zusammenfassung der ausgewählten Publikationen

1.1 Abstract (deutsch)

Einleitung: Frühgeborene mit sehr niedrigem Geburtsgewicht (unter 1500 g) haben ein erhöhtes Risiko, an kardiopulmonalen Komplikationen wie einem persistierenden Ductus arteriosus (PDA) oder einer bronchopulmonalen Dysplasie (BPD) zu leiden. Beide Pathologien wirken sich auf die Herzfunktion aus. Auf Gewebedoppler (englisch »tissue Doppler imaging«, TDI) und 2-dimensionalem Speckle-tracking-Imaging (2DSTI) basierende Strain (S) und Strain-Rate (SR) sind relativ neue Techniken der Echokardiografie, die neue Einblicke in die Entwicklung der Herzfunktion und deren Beeinflussung durch die BPD oder einen PDA bieten könnten. Ziel unserer Untersuchungen war, diese Methoden an einer solchen Population zu evaluieren und damit neue Erkenntnisse über die kardiopulmonale Situation dieser Patientengruppe zu erlangen.

Methodik: Unsere Studienpopulation bestand aus 121 Frühgeborenen. Anthropometrische Parameter wurden bestimmt sowie das Vorhandensein eines PDA oder einer BPD dokumentiert. Wir führten Machbarkeits- und Reproduzierbarkeitsstudien der TDI- und 2DSTI-basierten S- und SR-Messung durch und nahmen echokardiografische Untersuchungen an den Lebenstagen (LT) 1, 7, 14 und 28 vor. Die Auswertung fand post-hoc ohne Kenntnis des klinischen Zustands der untersuchten Kinder statt.

Ergebnisse: TDI-basierte S- und SR-Messungen zeigten die geringste Varianz zwischen zwei Herzschlägen mit den folgenden Analyseparametern: Breite der »Region of Interest« 2 mm, Länge 1 mm, »Strain-Länge« 6 mm. Die niedrigste Inter- und Intra-Observer-Variation fand sich für die systolischen Parameter. 2DSTI-basierte systolische Messungen waren insgesamt besser reproduzierbar. Der TDI-basierte S stieg innerhalb der ersten 28 LT signifikant in der freien Wand des rechten Ventrikels, während 2DSTI ansteigende Werte für globale systolische SR und S im basalen Septum produzierte. Im linken Ventrikel ließen sich sonst keine signifikanten Veränderungen nachweisen. Sowohl eine BPD als auch ein hämodynamisch relevanter PDA waren mit signifikant erniedrigten TDI-S-Werten in den freien Wänden des rechten (bei BPD) beziehungsweise linken (bei PDA) Ventrikels ab dem 14. LT assoziiert. Eine BPD war außerdem assoziiert mit erhöhten Werten für die 2DSTI-basierten Werte der globalen systolischen SR sowie der SR des mittleren Segments der freien Wand des linken Ventrikels an den LT 1 und 7.

Schlussfolgerung: Sowohl TDI als auch 2DSTI sind anwendbare Methoden zur Bestimmung

von S und SR bei Frühgeborenen mit sehr niedrigem Geburtsgewicht. Die Reproduzierbarkeit von 2DSTI-basierten Messungen ist besser als die der per TDI durchgeführten und systolische Messungen sind besser reproduzierbar als diastolische. Einige (aber nicht alle) der S- und SR-Parameter nahmen in den ersten 28 Lebenstagen zu. Die Veränderungen in Patientengruppen mit oder ohne BPD oder PDA sind zum Teil je nach Messmethode gegenläufiger Natur. Die klinische Anwendbarkeit der Methoden bei Frühgeborenen bleibt derzeit noch offen.

1.2 Abstract (english)

Introduction: Very low birth weight (VLBW) infants (birth weight below 1500 g) are at an increased risk of suffering from cardiopulmonary complications like patent ductus arteriosus (PDA) and bronchopulmonary dysplasia (BPD) both of which negatively affecting cardiac function. Tissue-Doppler-imaging (TDI) and 2-dimensional speckle tracking imaging (2DSTI) based strain (S) and strain rate (SR) are relatively new techniques in echocardiography that could possibly provide new information on the development of cardiac function and the influence of BPD or PDA. Aim of our studies was to evaluate S and SR in this population and thereby gain new insights into the cardiopulmonary situation of this group of patients.

Methods: Our study population consisted of 121 VLBW infants. Anthropometric data as well as the existence of PDA or BPD were documented. We conducted feasibility and reproducibility studies of TDI and 2DSTI based S and SR measurements. We performed echocardiographic examinations on days of life (DOL) 1, 7, 14 and 28. The post-hoc evaluation of the ultrasound images took place without knowledge of the clinical status of the infants examined.

Results: TDI based S und SR measurements showed the least beat-to-beat variation when using the following analysis parameters: width of the region of interest 2 mm, length 1 mm, strain length 6 mm. The lowest inter- and intra-observer-variation was found for systolic parameters. 2DSTI based systolic measurements as a whole showed higher reproducibility. TDI based S rose significantly during the first 28 DOL in the free wall of the right ventricle, while 2DSTI based measurements showed rising values for SR global systolic SR as well as S in the basal septum. BPD as well as haemodynamically relevant PDA were associated with significantly lower values for TDI based S in the right (BPD) and left (PDA) free walls after DOL 14. BPD was furthermore associated with higher values for 2DSTI based global systolic SR as well as SR in the mid segment of the free wall of the left ventricle at DOL 1 and 7.

Conclusion: TDI as well as 2DSTI based measurements of S and SR are feasible in VLBW infants. Reproducibility of 2DSTI based measurements are more reproducible than those based on TDI and systolic measurements are more reproducible than diastolic. Values for some (but not all) S and SR measurements increased in the first 28 DOL. Changes apparent in the patient groups with or without BPD or PDA were only partly significant and some even antipodal in different methods. Clinical appliances of both methods in preterm infants remain to be determined.

1.3 Einleitung und Zielsetzung

Die transthorakale Echokardiografie ist in der Neonatologie ein wichtiges Instrument zur kurz- und mittelfristigen Beurteilung der kardialen Struktur und Funktion Neu- und Frühgeborener. Bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht (GG) unter 1500 g — sogenannten very-low-birth-weight (VLBW)-Frühgeborenen — besteht eine Unreife in Bezug auf viele Organsysteme, die zu einer erhöhten Anfälligkeit für kardiopulmonale Komplikationen wie den persistierenden Ductus arteriosus (PDA) oder die bronchopulmonale Dysplasie (BPD) führt. Diese können den weiteren klinischen Verlauf negativ beeinflussen und langfristig zu einem schlechteren Outcome führen.[1, 2]

Strain (S) und Strain-Rate (SR) sind Parameter der Echokardiografie, die dazu dienen sollen, eine möglichst objektive Aussage über die Verformung des Herzmuskels zu geben. S beschreibt dabei die Verformung des Herzmuskels, während SR die Geschwindigkeit dieser Verformung darstellt. Prinzipiell findet diese Verformung in allen Dimensionen statt. Am Herzen spricht man gemeinhin von »longitudinal« (Längenveränderung entlang der Herzachse), »transmural« (Änderung der Wanddicke) und »zirkumferenziell« (Verformung tangential zur Herzachse). Im Rahmen dieser Arbeiten haben wir uns auf die longitudinale Verformung beschränkt. S und SR beschreiben demnach hier die Verkürzung beziehungsweise Verlängerung des Herzmuskels in Richtung der Herzachse. S und SR können mit Hilfe zweier zugrundeliegender Methoden bestimmt werden. Basierend auf dem Gewebedopplerverfahren [englisch: Tissue-Doppler-Imaging (TDI)], mit dem Gewebegeschwindigkeiten bestimmt werden, aus denen die Verformungswerte berechnet werden können, oder auf 2-dimensionalem »Speckle-Tracking« [englisch: 2-dimensional-Speckle-tracking-Imaging (2DSTI)], also dem Nachverfolgen einzelner Pixelgruppen. Beide Verfahren haben dabei Limitationen und Vorteile. Während TDI höhere Bildwiederholraten und damit eine höhere zeitliche Auflösung ermöglicht, ist es stark winkelabhängig und sollte nur eingesetzt werden, wenn das zu untersuchende Segment nicht mehr als 20 Grad von der Ultraschallachse abweicht. Hier liegt der große Vorteil des 2DSTI: Aufgrund der Nachverfolgung der Pixel in zwei Dimensionen besteht keine Abhängigkeit vom Winkel, in dem das Bild aufgenommen wurde. Allerdings sind zur Nachverfolgung größere Bildausschnitte nötig, die wiederum zu einer schlechteren Bildwiederholfrequenz führen, was gerade bei den hohen Herzfrequenzen, wie sie bei Frühgeborenen vorliegen, zu ungenauen Messungen führen kann.[3, 4]

Bei Erwachsenen und Kindern haben S und SR in Studien bei verschiedenen Krankheitsbildern Vorteile gegenüber den klassischen echokardiografischen Parametern gezeigt und finden zum Teil Einzug in die klinische Praxis [3, 5]. Für Neu- und vor allem Frühgeborene gibt es zwar nur wenige Daten, es existieren allerdings auch in diesen Patientengruppen vielversprechende Studien [6, 7]. Bei Frühgeborenen beschränken sich die Studien bisher hauptsächlich auf Machbarkeits- und Reproduzierbarkeitsanalysen [8, 9]. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung gab es unseres Wissens nach keine Studien, die ausschließlich VLBW-Frühgeborene in diesem Umfang untersucht hatten.

Ziel unserer Arbeiten war es, die Anwendbarkeit und Reproduzierbarkeit von TDI- und 2DSTI-basierten S und SR für VLBW-Frühgeborene zu evaluieren, deren Verlauf in dieser Population zu beschreiben und den Einfluss einer BPD oder eines PDA zu bestimmen.

1.4 Methodik

1.4.1 Patienten

Die Ultraschalluntersuchungen wurden an Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g durchgeführt, die im Zeitraum von September 2008 bis Januar 2010 im Perinatalzentrum am Campus Virchow Klinikum der Charité – Universitätsmedizin Berlin geboren wurden und die in der Folge auf eine der neonatologischen Stationen am selben Standort aufgenommen wurden. Es wurden so 121 der 168 hier geborenen VLBW-Frühgeborenen in die Studie aufgenommen. Ausgeschlossen wurden Kinder mit hämodynamisch relevanten angeborenen Herzfehlern sowie Kinder, die innerhalb der ersten 28 Lebenstage verstorben sind oder entlassen wurden. Ein PDA galt nicht als relevanter Herzfehler. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Charité genehmigt (# EA2/072/08). 2 weitere Kinder mussten nachträglich von den Verlaufsuntersuchungen ausgeschlossen werden, da nicht ausreichend Untersuchungen zu diesen Kindern vorlagen.

1.4.2 Messprotokoll und Datenerhebung

Alle Patienten wurden am 1., 7., 14. und 28. Lebenstag untersucht. Zum Einsatz kam dabei ein 7-MHz-Schallkopf an einem Vingmed System Vivid 7 Dimension '06 (GE Vingmed, Horten, Norwegen). Alle Untersuchungen wurden von insgesamt zwei erfahrenen Untersuchern durchgeführt (C. Czernik und L. Schmitz). Die transthorakalen Ultraschalluntersuchungen wurden in Rückenlage ohne den Einsatz von Beruhigungsmitteln durchgeführt. Auf diese Weise wurden Loops (kurze, meist einige Herzzyklen lange Videoaufnahmen) des linken Ventrikels (LV) im Ganzen, der linken und rechten freien Wand und des Septums aus dem apikalen Vierkammerblick, sowie M-Mode-Sequenzen aus der parasternalen langen Achse aufgenommen. Geburtsgewicht, Gewicht und Blutdruck am Untersuchungstag und Reifealter der Patienten sowie die Kriterien für einen hämodynamisch relevanten PDA [englisch: haemodynamically significant patent Ductus arteriosus (hsPDA)] oder eine BPD wurden nachträglich aus den Krankenakten erhoben. Als hämodynamisch relevant galt ein PDA, wenn er einem medikamentösen oder interventionellen Verschluss zugeführt wurde. Hierfür lagen die folgenden Kriterien vor: Ein PDA mit links-rechts-Shunt mit einem Durchmesser von mehr als 2 mm an der engsten Stelle bei einem Kind mit invasiver Beatmung. Eine BPD wurde definiert durch einen zusätzlichen Sauerstoffbedarf nach der korrigierten 36. Schwangerschaftswoche (SSW).

1.4.3 Offline-Analyse der Bilder

Die aufgenommenen Bilder und Loops wurden gespeichert und zur Analyse auf einen gewöhnlichen Computerarbeitsplatz übertragen. Die Auswertung wurde mit Hilfe der kommerziellen Software »Echopac PC SW 108.1.9« (GE Vingmed, Horten, Norwegen) durchgeführt. Der auswertenden Person waren dabei die klinischen Verläufe der Patienten nicht bekannt.

Konventionelle echokardiografische Parameter

Wir bestimmten die anteilige Verkürzung [englisch: fractional shortening (FS)] als Maß für die systolische linksventrikuläre Funktion. Sie wurde definiert als Differenz des linksventrikulären endsystolischen und enddiastolischen Durchmessers geteilt durch den enddiastolischen Durchmesser. Der linksventrikuläre Auswurf [englisch: left ventricular output (LVO)] wurde berechnet durch Integration der Geschwindigkeit des mitralen Einflusses über die Zeit multipliziert mit dem Mitralklappendurchmesser und der Herzfrequenz (HF). Alle Parameter wurden über mindestens drei Herzzyklen gemittelt.

Bestimmung der optimalen Auswertungsparameter zur Messung von Strain und Strain-Rate mit Hilfe des Gewebedopplers

Die Berechnung von S und SR basierend auf TDI erfolgt durch den Vergleich von Geschwindigkeiten in einem bestimmten Abstand. Diese »Messstrecke« wird Strain-Länge (SL) (bisweilen auch »computational length«) genannt. Aus der Information, wie schnell sich die Punkte an den Enden der SL annähern oder entfernen, kann man bestimmen, wie sehr sich das Segment pro Zeiteinheit verformt. Man erhält also SR und durch Integration über die Zeit dann S. Es müssen zunächst eine oder mehrere Messbereiche, sogenannte Regions of Interest (ROI) definiert werden. Sie bestimmen den Bildausschnitt, dessen einzelne Messwerte später gemittelt werden. Jeder Punkt innerhalb der ROI bildet den Mittelpunkt einer SL (s. Abbildung 1.1).

Die zur Auswertung notwendigen Parameter ROI-Breite (RB), ROI-Länge (RL) und SL, wurden vor Durchführung der eigentlichen Messungen an einer Auswahl von 20 qualitativ hochwertigen Aufnahmen an Tag 7 auf die beste Reproduzierbarkeit hin überprüft. Aufgrund der hohen Anzahl an Kombinationen wurde — unter der Annahme, dass eine höhere Varianz der Messwerte zwischen zwei aufeinanderfolgenden Herzschlägen hauptsächlich durch Messfehler (und weniger durch Rauschen) verursacht wird — die Schlag-zu-Schlag-Varianz [englisch: Beat-to-Beat-Variation (BBV)] als Maß für die Auswertungsqualität bestimmt. Hierfür wurde aus den S- und SR-Kurven zweier Schläge eine gemittelte Kurve berechnet und die Differenz der Fläche unter dieser Kurve und der Fläche der ersten Einzelkurve gebildet (s. Abbildung 1.2). Diese Differenz wurde dann durch die Fläche unter der gemittelten Kurve geteilt und in Prozent als BBV angegeben.

Wir bestimmten diese BBV für die freien Wände des LV und des rechten Ventrikels (RV) sowie

das Ventrikelseptum mit RB von 1 bis 3 mm (in 1-mm-Schritten), RL von 1 bis 5 mm und SL von 2 bis 6 mm (je in 2-mm-Schritten). Dabei überschritt die Summe aus SL und RL nicht die von uns gemessene minimale Länge der untersuchten Wandsegmente von 7 mm. Die maximale RB überschritt geringfügig die minimale Segmentbreite unter der Annahme, dass damit Ungenauigkeiten, die durch laterale Wandbewegungen ausgelöst werden, ausgeglichen werden könnten.

Für unsere Messungen haben wir eine einzelne ROI mittig im zentralen bis basalen (klappennahen) Abschnitt der einzelnen Wände platziert. Ein halbautomatischer »Tracking«-Mechanismus stellte während der Bewegung der Herzwand sicher, dass sich die ROI zu jeder Zeit an etwa derselben Stelle innerhalb der Wand befand.

Bestimmung von Strain und Strain-Rate mittels Gewebedoppler

Eine ROI wurde entsprechend den Voruntersuchungen im klappennahen Anteil der zu untersuchenden Wand platziert. Die S- und SR-Kurven von drei Herzzyklen wurden bei jeder Untersuchung an den freien Wänden des rechten und linken Ventrikels gemessen und daraus eine gemittelte Kurve berechnet, aus welcher der maximale systolische Strain [englisch: peak systolic strain (PSS)] und die maximale systolische Strain-Rate [englisch: peak systolic strain rate (PSSR)] bestimmt wurden. Wenn nur zwei ausreichend qualitative Herzzyklen aufgezeichnet waren, wurde die Mittelung über diese beiden Zyklen durchgeführt. In extrem seltenen Fällen wurde ein einzelner Zyklus vermessen, wenn dieser eine hohe Qualität hatte und keine weiteren Zyklen zur Verfügung standen. PSS und PSSR wurden auf der Kurve von Hand bestimmt. Die Bildqualität der einzelnen Ultraschallaufnahmen wurde durch visuelle Einschätzung des Bildmaterials und der resultierenden Kurven bestimmt. Nur Bilder von ausreichender Qualität wurden für die statistische Auswertung verwendet. Alle Aufnahmen hatten mindestens eine Bildwiederholrate von 400 Bildern pro Sekunde.

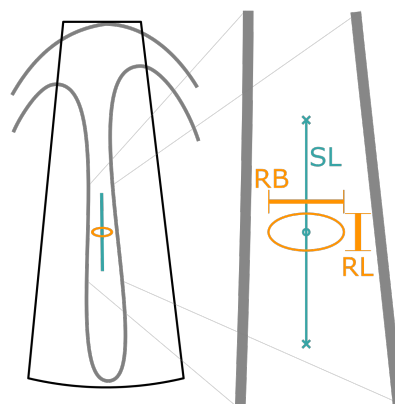


Abbildung 1.1: Darstellung der Region-of-Interest (ROI, Orange) und der zugehörigen Analyseparameter im Interventrikulärseptum. Grau: Herzmuskel, Schwarz: Ausschnitt des Ultraschallbildes, Blau: Strain-Länge (SL), Orange: ROI-Breite (RB), ROI-Länge (RL).

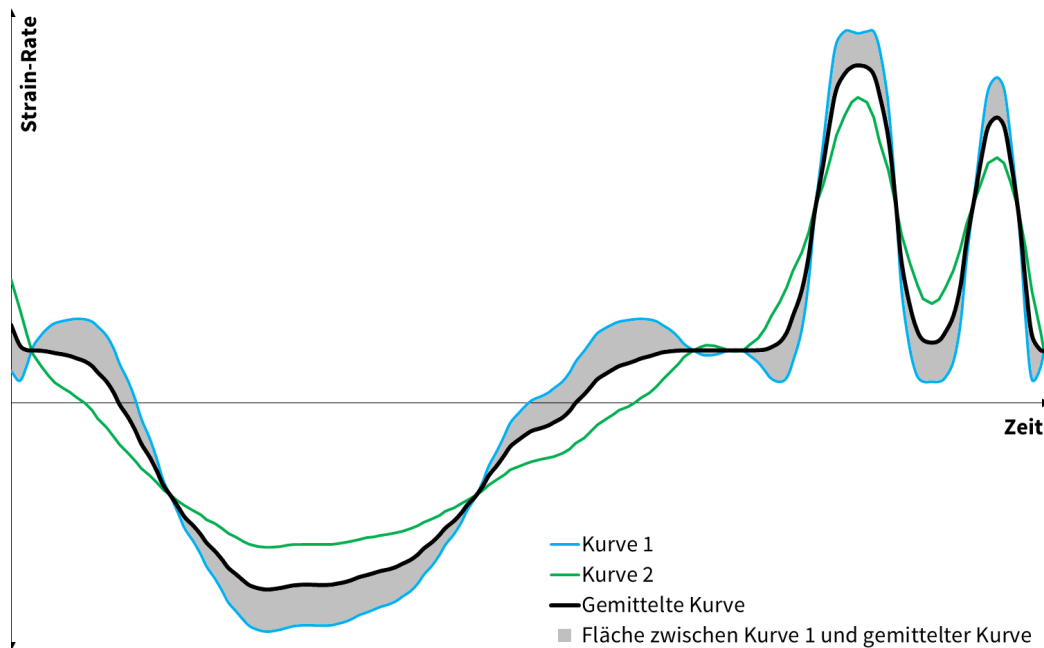


Abbildung 1.2: Illustration der Beat-to-Beat-Variation. Die Fläche zwischen den Kurven wird durch die Fläche unter der gemittelten Kurve geteilt. Schwarz: Strain-Rate-Kurven 1 & 2, Dunkles Grau: gemittelte Kurve, helles Grau: Fläche zwischen Kurve 1 und der gemittelten Kurve.

Bestimmung von Strain und Strain Rate mittels 2-Dimensionalem-Speckle-Tracking

Die ROI für die Bestimmung von S und SR mittels 2DSTI wurde durch die Auswertungssoftware automatisch anhand einer manuell gezogenen Linie entlang des Endokards bestimmt. Diese ROI schloss in jedem Fall die mittlere Schicht des Myokards ein. Die Wand des LV wurde in sechs Regionen eingeteilt und für jede der longitudinale systolische Strain (LSS) und die longitudinale systolische Strain-Rate (LSSR) bestimmt, deren Mittelwert den globalen longitudinalen systolischen Strain (GLSS) beziehungsweise die globale longitudinale systolische Strain-Rate (GLSSR) ergab.

1.4.4 Inter- und Intra-Operator-Variabilität

Sowohl die Abweichung zwischen den Auswertungen zweier verschiedener Personen (Inter-Operator-Variabilität) als auch die Abweichungen zwischen zwei Auswertungen einer einzelnen Person (Intra-Operator-Variabilität) wurden für beide Methoden analysiert. Hierfür wurden 20 Untersuchungen je Methode ausgewertet.

1.4.5 Statistische Methoden

Die statistischen Berechnungen und die Erstellung der statistischen Grafen wurden durchgeführt mit der statistischen Programmiersprache R (Versionen 2.15.2 bis 3.1.1, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) sowie mit Statgraphics Centurion (Version 16.0, Statpoint Technologies Inc., Warrenton, Virginia, USA) und MedCalc (Version 9.2.0.2, MedCalc Software

bvba, Ostend, Belgien). Die zum Einsatz gekommenen statistischen Tests wurden entsprechend der Verteilung und Skalierung der Vergleichsgrößen gewählt. Die einzelnen Kombinationen der TDI-Auswerteparameter wurden anhand der Rangfolge der mit ihnen ermittelten mittleren BBV geordnet und schrittweise verglichen. Bei abhängigen Stichprobenvergleichen wurde eine Alphafehlerkorrektur nach Holm-Bonferroni durchgeführt. Die Inter- und Intra-Operator-Varianz wurde dargestellt mit Hilfe des Variationskoeffizienten [englisch: coefficient of variation (CV)], definiert als Standardabweichung dividiert durch Mittelwert, sowie mit Hilfe der von Bland und Altman beschriebenen statistischen Methoden und Grafiken [10]. Ein p-Wert von unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

1.5 Ergebnisse

1.5.1 Patientenkollektiv, klinische und konventionelle echokardiografische Parameter

Die eingeschlossenen Patienten hatten ein GG zwischen 331 g und 1495 g (Median: 996 g) und ein Gestationsalter (GA) zwischen 23 SSW und 32 SSW (Median 27 SSW). Eine BPD entwickelten 36 (30 %) der Kinder, während 29 (24,4 %) einen hsPDA aufwiesen. Bei 24 der Kinder war der hsPDA am 14. Lebenstag (LT) noch vorhanden und nur 5 davon waren am 28. LT nicht verschlossen. Die Anzahl der beatmeten Patienten nahm von 61 % auf 19 % ab. Der Median für die Beatmungsdauer lag bei sechs Tagen. Eine zusätzliche Sauerstoffsupplementation war im Median für 11 Tage notwendig. Körperlänge, Gewicht und Blutdruck nahmen über den Beobachtungszeitraum konstant zu, HF sowie FS und LVO zeigten nur in den ersten 7 LT einen signifikanten Anstieg.

1.5.2 Optimale Auswertungsparameter für Tissue-Doppler-basierte Strain und Strain-Rate

Sowohl eine Vergrößerung der RL als auch der SL führte zu einer Verringerung der BBV. Bei konstanter Summe von RL und SL zeigten die Kombinationen mit höherer SL eine signifikant geringere BBV. Dieser Effekt erschöpfte sich allerdings für die Kombinationen mit einer SL von 6 mm und RL von 1 mm im Vergleich zu Kombinationen mit einer SL von 4 mm und RL von 3 mm. Die niedrigste BBV lieferten Kombinationen mit einer RB von 2 mm. Im Vergleich aller Kombinationen untereinander zeigten sich mehrere Kombinationen ohne signifikante Unterschiede in der BBV im unteren Bereich. All diese Kombinationen hatten eine Summe aus SL und RL von 7 mm und eine RB von 2 mm oder weniger. Sowohl für S als auch für SR fand sich hierunter die Kombination aus einer SL von 6 mm, einer RL von 1 mm und einer RB von 2 mm. Diese Parameter wurden zur weiteren Auswertung verwendet.

1.5.3 Entwicklung von Strain und Strain-Rate in den ersten 28 Lebenstagen

Im Zeitraum vom ersten bis zum 28. LT nahmen TDI-PSS und -PSSR im RV signifikant zu. Der höchste Anstieg war dabei an Tag 14 zu verzeichnen. Für den LV ließen sich weder mit der auf TDI noch mit der auf 2DSTI basierenden Methode Unterschiede nachweisen. Einzig der 2DSTI-PSS zeigte sich am 1. LT im apikalen Segment des Septums etwas erniedrigt. Es zeigten sich einzelne signifikante, aber nicht relevante (Korrelationskoeffizient nach Pearson unter 0,33) Korrelationen des TDI-PSS und -PSSR mit GG, Gewicht bei Untersuchung und GA. Keiner der TDI- oder 2DSTI-basierten Parameter zeigte eine relevante Abhängigkeit von der Herzfrequenz.

1.5.4 Einfluss eines persistierenden Ductus arteriosus auf Strain und Strain Rate

Ein hsPDA war mit einem signifikant niedrigeren TDI-PSS in der freien Wand des LV am 14. und 28. LT assoziiert. Hier zeigten weder eine BPD oder eine bestehende maschinelle Beatmung einen signifikanten Effekt. Zwischen dem 14. und 28. LT zeigte sich ein kleiner aber nicht signifikanter Anstieg des TDI-PSS. In diesem Zeitraum fanden über 75 % der Ductusverschlüsse statt. Für PSSR zeigte sich ein signifikant niedrigerer Wert am 28. LT. Da sich dieser Effekt auch bei Kindern mit oder ohne BPD zeigte und nur 4 Kinder mit hsPDA keine BPD entwickelten, konnte dieser Effekt nicht sicher dem hsPDA zugeordnet werden. Für die 2DSTI-basierten Parameter fanden sich nach Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Unterschiede mit oder ohne hsPDA.

1.5.5 Einfluss einer sich entwickelnden bronchopulmonalen Dysplasie auf Strain und Strain-Rate

Die Gruppe von Kindern, die eine BPD entwickelte, zeigte am 14. und 28. LT einen signifikant niedrigeren TDI-PSS der freien Wand des RV als die Vergleichsgruppe. Am 28. LT war auch eine maschinelle Beatmung mit einem niedrigeren Wert assoziiert, eine Subgruppenanalyse zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Untergruppen. Bei den 2DSTI-basierten Methoden zeigten sich nur für die PSSR des mittleren Segments der freien Wand des LV sowie die GLSSR Unterschiede. Die Gruppe der Kinder, die eine BPD entwickelten, zeigte für diese Parameter am ersten und siebten LT signifikant höhere Werte als die Gruppe ohne BPD. Diese Unterschiede verkleinerten sich und waren am 14. LT nicht mehr signifikant. Am 28. LT verhielten sich die Parameter in beiden Gruppen etwa gleich.

1.5.6 Reproduzierbarkeit der Parameter

Für die TDI-basierten Messungen zeigten sich für die systolischen Werte sowohl für S als auch für SR niedrigere CV und eine größere Übereinstimmung im Bland-Altman-Plot als für diastolische

Werte. Das Septum lieferte am häufigsten die niedrigsten CV, während die freie Wand des LV die höchsten CV lieferte. Die CV lagen zwischen 10,4 % und 57,2 % für die Intra- und zwischen 22,5 % und 60,2 % für die Inter-Observer-Variabilität. Insgesamt waren die CV der 2DSTI-basierten Parameter kleiner. Für die GLSSR lag er bei 5,0 % für die Intra- und bei 4,7 % für die Inter-Observer-Variabilität. Das Septum lieferte niedrigere CV (minimal 3,7 % für PSS und PSSR im mittleren Segment) während die freie Wand des LV Werte zwischen 9,9 % und 14 % lieferte. Die apikalen Abschnitte lieferten in beiden Wänden höhere CV.

1.6 Diskussion

1.6.1 Optimierung der Messparameter, Auswertbarkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen

Zur Evaluation der Analyseparameter für TDI-basierte S- und SR-Messungen lagen bisher nur eine Untersuchung an reifen Neugeborenen durch Nestaas et al.[11] sowie eine Untersuchung an einer gemischten Gruppe von Früh- und Neugeborenen durch Poon et al.[8] vor. Wir konnten die Ergebnisse von Nestaas et al. bestätigen, bei dem sich eine kurze ROI mit großer SL als vorteilhaft erwiesen hatte. Weiterhin zeigten RB etwa in Größe des zu untersuchenden Segments niedrige BBV. Unsere Messungen erbrachten eine recht große Gruppe von ROI-SL-Kombinationen ohne signifikanten BBV-Unterschied. Alle diese Kombinationen hatten eine Summe von RL und SL von mindestens 5 mm. Es scheint, als spiele die Summe von RL und SL eine größere Rolle als der genaue Anteil beider Parameter an dieser Summe. Bei Poon et al. lieferte auch eine SL von 6 mm die besten Ergebnisse. Allerdings benutzten Poon et al. eine wesentlich größere ROI an einer Population mit größerer Heterogenität. Dies verringert die Vergleichbarkeit mit unseren Daten, da die Kombination, die dort die besten Ergebnisse lieferte, bei unserer Patientengruppe die Segmentgrenzen bei weitem überschreiten würde. Bezogen auf Inter- und Intra-Operator-Variabilität war die Reproduzierbarkeit der 2DSTI-basierten Messungen in unserer Studie sehr gut, während die TDI-basierten Messungen eine wesentlich schlechtere Reproduzierbarkeit zeigten. Diese war vergleichbar mit denen anderer Arbeitsgruppen[9, 12, 13]. Die bessere Reproduzierbarkeit lässt sich durch die höhere Automatisierung der 2DSTI-Analyse erklären, die vor allem die Bewegung des Segments besser nachvollzieht als der halbautomatische Mechanismus beim TDI. Die diastolischen Parameter des TDI hatten eine so hohe Intra- und Inter-Operator-Variabilität, dass wir sie von weiteren Messungen ausschließen mussten.

1.6.2 Entwicklung der Messungen in den ersten 28 Lebenstagen

TDI-basierte PSS und PSSR des RV wiesen in den ersten 28 Lebenstagen in unserer Population ein Verhalten auf, das dem der konventionellen Parameter LVO und FS entsprach. Während Gewicht und Länge konstant über den gesamten Beobachtungszeitraum zunahmen, zeigten

sich für diese Parameter vor allem in den ersten sieben LT deutliche Veränderungen. Dies könnte die kardiovaskulären Anpassungsvorgänge widerspiegeln, die durch die Umstellung des fetalen zum postnatalen Kreislauf bedingt werden[14]. Pena et al [15] zeigten einen ähnlichen Verlauf des RV-PSS bei reifen Neugeborenen. Hier zeigte sich außerdem ein Absinken des PSS im Septum zwischen dem 1. und 30. LT. Dies könnte eine Folge des sinkenden Widerstands im Pulmonal- und steigenden Widerstands im Systemkreislauf sein. In unserer Studie konnten wir diesen Effekt für den LV allerdings weder mittels TDI noch 2DSTI nachweisen.

1.6.3 Einfluss von persistierendem Ductus arteriosus und bronchopulmonaler Dysplasie

Die Ergebnisse unserer Studien waren heterogen. Eine BPD war mit niedrigerem TDI-PSS am 14. und 28. LT im RV, einer höheren 2DSTI-PSSR global und im mittleren Septumsegment sowie einer höheren FS und einem höheren LVO assoziiert. Dies weist auf eine Beeinflussung des RV und des LV hin. Für den hsPDA lies sich nur eine signifikante Assoziation mit dem LV-TDI-PSS nachweisen. Überraschend ist vor allem, dass sich die mit einer BPD assoziierten Veränderungen der klassischen Parameter nicht mittels TDI-PSS oder PSSR nachweisen ließen, während sich die mit dem hsPDA assoziierten Veränderungen nur im TDI-PSS nachweisen ließen. Es könnte sein, dass hier die Tatsache eine Rolle spielt, dass für die Berechnung von LVO und FS eine Geometrie des LV angenommen wird, die bei Früh- und Neugeborenen häufig nicht vorliegt. PSS stellt die longitudinale Verkürzung des beobachteten Muskelsegments (in diesem Fall in der freien Wand des RV) dar, während FS und LVO globale Parameter der Herzfunktion sind, die auf eindimensionalen M-Mode-Messungen beruhen. Hieraus könnte man schlussfolgern, dass die globale Herzfunktion bei BPD zuzunehmen scheint, während sich die regionale Kontraktion in der freien Wand des LV nicht verändert. Im Gegensatz dazu scheint ein hsPDA zwar die Kontraktion der freien Wand, jedoch nicht die globale Funktion des LV zu verändern. Hier könnte die Funktion des Septums eine Rolle spielen, in dem sich auch Veränderungen der 2DSTI-PSSR nachweisen ließen.

1.6.4 Limitationen

Optimierung der Auswerteparameter

Zu den optimalen Auswerteparametern sowie deren Einfluss auf TDI-S und -SR gibt es bisher nur wenige Untersuchungen. Wir entschieden uns für eine Untersuchung mittels BBV als Surrogatparameter für die Reproduzierbarkeit allein auf Grundlage theoretischer Überlegungen. Der genaue Zusammenhang zwischen Reproduzierbarkeit »in vitro« als BBV und »in vivo« als Interbeziehungsweise Intra-Observer-Variabilität wurde in unseren Studien nicht untersucht. Wir haben die Parameter außerdem für die freien Wände des RV und LV sowie das Septum gemeinsam betrachtet, da wir eine einzelne Kombination für alle Wände erhalten wollten. Einzelne Kombinationen könnten in einzelnen Wänden bessere Ergebnisse liefern als die von uns ermittelten.

Wir haben uns außerdem auf Kombinationen beschränkt, die sich auf die Größe der von uns untersuchten Segmente begrenzten. Wir begrenzten die Auswertung auf ein Segment pro Wand, da mehrere Segmente kleinere ROI-SL-Kombinationen erforderlich gemacht hätten, die wiederum die Reproduzierbarkeit verringert hätten.

Strain und Strain-Rate Messungen

Die Vor- und Nachteile von der 2DSTI- und TDI-Methoden bei Kindern wurden schon mehrfach beschrieben[8, 9]. Während wir in der Lage waren für beide Methoden Unterschiede, assoziiert mit klinischen Parametern wie GA, BPD oder hsPDA, nachzuweisen, ist die Interpretation erschwert durch die hohe Interkorrelation dieser klinischen Parameter in unserer Population. In vielen Fällen wurde durch Stratifizierung die Gruppengröße trotz unserer recht großen Studienpopulation so sehr verringert, dass kein Nachweis signifikanter Unterschiede mehr möglich war. Weiterhin mussten wegen der Post-Hoc-Analyse eine nicht unerhebliche Zahl von Aufnahmen verworfen werden, da Bilder mit unzureichender Qualität nicht erneut aufgenommen werden konnten. Aufgrund der verhältnismäßig schlechten Reproduzierbarkeit der TDI-Messung im Septum und der noch ausstehenden 2DSTI-Messungen für den RV war auch der Vergleich der beiden Messmethoden untereinander erschwert.

1.6.5 Fazit

In unseren Studien konnten wir zeigen, dass sowohl TDI- als auch 2DSTI-basierte Messungen bei VLBW-Frühgeborenen durchführbar sind. Für die klinische Praxis sind beide Methoden derzeit noch zu zeitaufwändig und vor allem die TDI-Messungen relativ schlecht reproduzierbar. Wir waren dennoch in der Lage, Unterschiede zwischen Gruppen mit oder ohne PDA oder BPD nachzuweisen. Hier ist vor allem interessant, dass Kinder mit einer sich entwickelnden BPD schon in den ersten Lebenstagen Veränderungen in der 2DSTI-basierten SR vor allem des Septums zeigen, während sich im späteren Verlauf mittels TDI Veränderungen im PSS der freien Wand des RV bei BPD und des LV bei hsPDA nachweisen lassen. Durch die Weiterentwicklung der echokardiografischen Methoden wie zum Beispiel des dreidimensionalen Speckle-Trackings in Echtzeit könnten hiermit weitere Informationen zur Entwicklung der kardialen Funktion von Früh- und Neugeborenen gewonnen werden.

1.7 Literaturverzeichnis

1. Bhat, R., Salas, A. A., Foster, C., Carlo, W. A. & Ambalavanan, N. Prospective Analysis of Pulmonary Hypertension in Extremely Low Birth Weight Infants. *Pediatrics* **129**, e682–e689 (Mar. 2012).
2. Schneider, D. J. & Moore, J. W. Patent Ductus Arteriosus. *Circulation* **114**, 1873–1882 (Oct. 2006).
3. Dandel, M. & Hetzer, R. Echocardiographic strain and strain rate imaging — Clinical applications. *International Journal of Cardiology* **132**, 11–24 (Feb. 2009).
4. D’hooge, J. *et al.* Regional Strain and Strain Rate Measurements by Cardiac Ultrasound: Principles, Implementation and Limitations. *European Journal of Echocardiography* **1**, 154–170 (Sept. 2000).
5. Gorcsan III, J. & Tanaka, H. Echocardiographic Assessment of Myocardial Strain. *Journal of the American College of Cardiology* **58**, 1401–1413 (Sept. 2011).
6. Nestaas, E., Støylen, A., Brunvand, L. & Fugelseth, D. Longitudinal strain and strain rate by tissue Doppler are more sensitive indices than fractional shortening for assessing the reduced myocardial function in asphyxiated neonates. *Cardiology in the Young* **21**, 1–7 (Feb. 2011).
7. Czernik, C., Rhode, S., Helfer, S., Schmalisch, G. & Bührer, C. Left Ventricular Longitudinal Strain and Strain Rate Measured by 2-D Speckle Tracking Echocardiography in Neonates During Whole-Body Hypothermia. *Ultrasound in Medicine & Biology* **39**, 1343–1349 (Aug. 2013).
8. Poon, C. Y., Edwards, J. M., Joshi, S., Kotecha, S. & Fraser, A. G. Optimization of myocardial deformation imaging in term and preterm infants. *European Journal of Echocardiography* **12**, 247–254 (Jan. 2011).
9. Joshi, S. *et al.* Reproducibility of myocardial velocity and deformation imaging in term and preterm infants. *European Journal of Echocardiography* **11**, 44–50 (Jan. 2010).
10. Bland, J. M. & Altman, D. G. Measuring agreement in method comparison studies. *Statistical Methods in Medical Research* **8**, 135–160 (Apr. 1999).
11. Nestaas, E., Støylen, A., Sandvik, L., Brunvand, L. & Fugelseth, D. Feasibility and reliability of strain and strain rate measurement in neonates by optimizing the analysis parameters settings. *Ultrasound in Medicine & Biology* **33**, 270–278 (Feb. 2007).
12. Pena, J. L. B. *et al.* Quantification of regional left and right ventricular deformation indices in healthy neonates by using strain rate and strain imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography* **22**, 369–375 (Apr. 2009).

13. Weidemann, F. *et al.* Quantification of regional left and right ventricular radial and longitudinal function in healthy children using ultrasound-based Strain Rate and Strain Imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography* **15**, 20–28 (Jan. 2002).
14. Rudolph, A. M. Congenital cardiovascular malformations and the fetal circulation. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* **95**, F132–F136 (Mar. 2009).
15. Pena, J. L. B. *et al.* Sequential Changes of Longitudinal and Radial Myocardial Deformation Indices in the Healthy Neonate Heart. *Journal of the American Society of Echocardiography* **23**, 294–300 (Mar. 2010).

2 Anteilserklärung an den erfolgten Publikationen

Sven Helfer hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C. Reproducibility and Optimization of Analysis Parameters of Tissue Doppler-Derived Strain and Strain Rate Measurements for Very Low Birth Weight Infants. Echocardiography. 2013

Beitrag im Einzelnen: Grundlegende Planung, Durchführung der Offlineanalyse, statistische Auswertung, Verfassen des Manuskripts.

Publikation 2: Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C. Tissue-Doppler-Derived Strain and Strain Rate During the First 28 Days of Life in Very Low Birth Weight Infants. Echocardiography. 2014

Beitrag im Einzelnen: Mitarbeit bei der Planung, Durchführung der Offlineanalyse, statistische Auswertung, Verfassen des Manuskripts.

Publikation 3: Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühler C, Schmitz L. Development of Left Ventricular Longitudinal Speckle Tracking Echocardiography in Very Low Birth Weight Infants With and Without Bronchopulmonary Dysplasia During the Neonatal Period. PLOS ONE. 2014

Beitrag im Einzelnen: Mitarbeit bei der Einleitung, der statistischen Auswertung und der Interpretation.

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers:

Unterschrift des Doktoranden:

3 Eidesstattliche Versicherung

Ich, Sven Helfer, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: »Strain- und Strain-Rate-Messungen bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g in den ersten 28 Lebenstagen« selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE — www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Grafiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der obenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwarhen eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

4 Druckexemplare der Ausgewählten Publikationen

4.1 Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Reproducibility and Optimization of Analysis Parameters of Tissue Doppler–Derived Strain and Strain Rate Measurements for Very Low Birth Weight Infants.

Echocardiography. 2013 Nov;30(10):1219-26. doi: [10.1111/echo.12273](https://doi.org/10.1111/echo.12273). Epub 2013 Jun 6.
Impact Factor: 1,254

Dieser Artikel wurde aus urheberrechtlichen Gründen für die Onlinearchivierung entfernt. Er ist abzurufen unter:
<http://dx.doi.org/10.1111/echo.12273>

4.2 Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C. Tissue Doppler-Derived Strain and Strain Rate during the First 28 Days of Life in Very Low Birth Weight Infants.

Echocardiography. 2014 Jul;31(6):765-72. doi: [10.1111/echo.12463](https://doi.org/10.1111/echo.12463). Epub 2013 Dec 23.

Impact Factor: 1,254

Dieser Artikel wurde aus urheberrechtlichen Gründen für die Onlinearchivierung entfernt. Er ist abzurufen unter:
<http://dx.doi.org/10.1111/echo.12463>

4.3 Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühner C, Schmitz L. Development of Left Ventricular Longitudinal Speckle Tracking Echocardiography in Very Low Birth Weight Infants with and without Bronchopulmonary Dysplasia during the Neonatal Period.

PLoS One. 2014 Sep 3;9(9):e106504. doi: [10.1371/journal.pone.0106504](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106504). eCollection 2014.
Impact Factor: 3,534

©2014 Cernic et al. Es wurden keine Änderungen vorgenommen.

Dieser Artikel ist erschienen unter der Lizenz CC-BY (Creative Commons Namensnennung).

Diese kann eingesehen werden unter:

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode>

Sie dürfen:

Teilen — das Material in jedwedem Format oder Medium vervielfältigen und weiterverbreiten.

Bearbeiten — das Material remixen, verändern und darauf aufbauen und zwar für beliebige Zwecke, sogar kommerziell.

Der Lizenzgeber kann diese Freiheiten nicht widerrufen solange Sie sich an die Lizenzbedingungen halten.

Unter folgenden Bedingungen:

Namensnennung — Sie müssen angemessene Urheber- und Rechteangaben machen, einen Link zur Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Diese Angaben dürfen in jeder angemessenen Art und Weise gemacht werden, allerdings nicht so, dass der Eindruck entsteht, der Lizenzgeber unterstütze gerade Sie oder Ihre Nutzung besonders.

Keine weiteren Einschränkungen — Sie dürfen keine zusätzlichen Klauseln oder technische Verfahren einsetzen, die anderen rechtlich irgendetwas untersagen, was die Lizenz erlaubt.



Development of Left Ventricular Longitudinal Speckle Tracking Echocardiography in Very Low Birth Weight Infants with and without Bronchopulmonary Dysplasia during the Neonatal Period

Christoph Czernik^{1*}, Stefanie Rhode^{1,2}, Sven Helfer², Gerd Schmalisch¹, Christoph Bührer¹, Lothar Schmitz²

1 Department of Neonatology, Charité University Medical Center, Berlin, Germany, **2** Department of Pediatric Cardiology, Charité University Medical Center, Berlin, Germany

Abstract

Objectives: In preterm infants, postnatal myocardial adaptation may be complicated by bronchopulmonary dysplasia (BPD). We aimed to describe the development of left ventricular function by serial 2D, Doppler, and speckle tracking echocardiography (2D-STE) in infants with and without BPD during the neonatal period and compare these to anthropometric and conventional hemodynamic parameters.

Study Design: Prospective echocardiography on day of life (DOL) 1, 7, 14, and 28 in 119 preterm infants <1500 g birth weight of whom 36 developed BPD (need for oxygen supplementation at 36 weeks gestational age). Non-BPD and BPD infants differed significantly in median (IQR) gestational age (25.5(24–26.5) weeks vs. 29(27–30) weeks, $p<0.001$) and birth weight (661(552–871) g vs. 1100(890–1290) g, $p<0.001$).

Results: The intra- and inter-observer variability of the 2D-STE parameters measured did not depend on time of measurement, although there were significant differences in the reproducibility of the parameters. Low intra- and inter-observer variability was seen for longitudinal systolic strain and strain rate mid septum with a median CV (coefficient of variation) of <4.6%. Much higher CVs (>10%) were seen for the apical segment. While anthropometric parameters show rapid development during the first 4 weeks of life, the speckle tracking parameters did not differ statistically significantly during the neonatal period. Infants with and without BPD differed significantly ($p<0.001$) in the development of anthropometric parameters, conventional hemodynamic parameters except for heart rate, and 2D-STE parameters: global longitudinal systolic strain rate (GLSSR) and longitudinal systolic strain for the mid left wall (LSSR). The largest differences were seen at DOL 1 and 7 in GLSSR ($p<0.001$) and in LSSR ($p<0.01$).

Conclusions: Reproducible 2D-STE measurements are possible in preterm infants <1500 g. Cardiac deformation reveals early (DOL 1 and 7) ventricular changes (GLSSR and LSSR) in very low birth weight infants who develop BPD.

Citation: Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bührer C, et al. (2014) Development of Left Ventricular Longitudinal Speckle Tracking Echocardiography in Very Low Birth Weight Infants with and without Bronchopulmonary Dysplasia during the Neonatal Period. PLoS ONE 9(9): e106504. doi:10.1371/journal.pone.0106504

Editor: Olivier Baud, Hôpital Robert Debré, France

Received: November 29, 2013; **Accepted:** August 7, 2014; **Published:** September 3, 2014

Copyright: © 2014 Czernik et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: These authors have no support or funding to report.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* Email: christoph.czernik@charite.de

¶ These authors share first authorship.

Introduction

After birth, newborn life is dominated by a process of adaption. In order to survive deprived of the maternal supply of oxygen and metabolites, the infant's organism has to develop significantly in the first hours and days of life [1,2]. One of the most important developments here is the transition from fetal to postnatal circulation. For preterm and particularly for very low birth weight (VLBW) infants (birth weight <1500 g), this transition is especially difficult. While the pathophysiologic processes that lead to bronchopulmonary dysplasia (BPD) and patent ductus arteriosus

(PDA) are still incompletely understood, they are closely linked to the immaturity of the cardiorespiratory system in this population [3,4]. BPD development is based on the immaturity of the lung tissue in combination with oxidative stress [5]. Increased right ventricular afterload and pulmonary hypertension (PH) are common complications of BPD, and recent studies have increased awareness that PH worsens the clinical course, morbidity and mortality of BPD [6].

In order to better monitor the cardiopulmonary development of these patients, new diagnostic tools are always needed and emerging [7]. One of these new tools is two-dimensional speckle

tracking echocardiography (2D-STE) based strain and strain rate measurements. 2D-STE is based on classic B-mode imaging [8–10]. Speckles are groups of pixels that represent the acoustic backscatter of the ultrasonic beam. These form the characteristic B-mode image. Special software algorithms can track these patterns and calculate velocities and deformation. As opposed to measurements taken using tissue Doppler imaging (TDI), this allows for relative angle independency within the 2D sector, and thus two-dimensional strain and strain rate measurements.

2D-STE based deformation imaging has shown promising results in various clinical studies and its reliability and repeatability has been demonstrated in adult and pediatric populations [11–17]. Nastaas et al. were able to show that TDI derived strain was more sensitive than fractional shortening (FS) in detecting myocardial dysfunctions in asphyxiated newborns during and after whole-body therapeutic hypothermia [18,19], and we were able to show that hypothermia also affects 2D-STE based strain rate [20]. In their study, Hardegreve et al. note that the right (RV) and left ventricles (LV) do not function in isolation in a patient with PH and found not only a reduction in RV systolic strain, but also reduced LV systolic strain [21].

These results are encouraging and indicate that 2D-STE might also deliver new insights into the cardiac function of very low birth weight infants. In contrast to anthropometric and conventional hemodynamic parameters, very little is known about the development of 2D-STE parameters during the neonatal period, especially in patients who develop BPD. We hypothesized that there are significant differences in the development of the speckle tracking parameters between infants who subsequently did and did not develop BPD. Therefore, the goal of this study was to assess the applicability and reproducibility of the speckle tracking parameters in VLBW infants and the development of 2D-STE based strain and strain rate in the first 28 days of life compared to hemodynamic and anthropometric parameters.

Patients and Methods

Study population

The study was conducted prospectively at our perinatal center from September 2008 to January 2011. During the study period, we enrolled 119 of the 167 VLBW infants who were admitted to our neonatal intensive care unit. 48 infants were excluded from our study. Of these, 5 had congenital heart malformations, and for 7 no parental consent was given. 18 infants died within 48 h after birth and 18 in the first month of life, so they did not have the full set of four sequential echocardiograms and were therefore later excluded from the study. All infants received standard intensive care, no infant required inotropes or vasopressors, and they were examined without sedation. The study protocol was approved by the local institutional review board (Ethikkommission der Charité, # EA2/072/08), and written informed parental consent was obtained.

Weight and length at birth and at 1, 7, 14 and 28 days of life were documented. Bronchopulmonary dysplasia, defined as a requirement for supplemental oxygen at 36 weeks gestational age, was recorded as morbidity. We also recorded when hemodynamically significant PDA (hsPDA) treatment (either medical or surgical) was required using the following previously established criteria: PDA with left-to-right-shunt, narrowest diameter >2 mm in addition to the need for invasive ventilatory support [22].

Blood pressure measurement

Noninvasive systolic, diastolic and mean arterial blood pressure were assessed using an IntelliVue MMSX2 (Philips) monitor and

recorded at the same time as echocardiographic measurement. Philips infant BP cuffs were used (sizes 1 to 3). The smallest cuff size that covered at least two-thirds of the right upper arm or encompassed the entire arm was selected.

Conventional echocardiographic measurements

All patients were examined using the same 7S transducer interfaced with a Vingmed System Vivid 7 Dimension'06 (GE Vingmed, Horten, Norway). Transthoracic imaging was performed on the neonates at the ages of 1, 7, 14 and 28 days in a supine position without sedation. All scans were performed by the same experienced operator.

M-mode tracings of the left ventricular cavity were recorded from the parasternal long-axis view with a single beam directed at the level of the tips of the mitral leaflets. We used LV fractional shortening (FS) as a measure of systolic left ventricular function. FS was defined as the difference in left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD) and left ventricular end-systolic diameter (LVESD) divided by LVEDD and then multiplied by 100.

Left ventricular output (LVO) was calculated as the total time velocity integral of mitral inflow multiplied by mitral valve (MV) area and heart rate, then divided by body weight. The diameter of the MV annulus was measured using the end-diastolic hinge points extracted from the apical four-chamber view frames. The MV area was calculated from the MV diameter in diastole assuming circularity of the left ventricle. The total time velocity integral of mitral inflow was measured using pulsed wave Doppler from the same apical four-chamber view. The measurement procedure is standard throughout our department and a detailed description has already been published [23]. At least three consecutive cardiac cycles were recorded for all parameters and the mean values of each parameter were used for further analysis. Offline analysis of the data was performed using dedicated software (EchoPac PC SW 108.1.9, GE Vingmed, Horten, Norway).

2D speckle tracking echocardiography

We acquired LV four-chamber views using a median frame rate of 115 frames per second. Five consecutive cardiac cycles were acquired for each plane and digitally stored on a hard drive for offline analysis. Image analysis was performed offline on a PC workstation using custom analysis software. Strain quantification was performed using commercially available software (EchoPAC PC version 108.1.9, GE Vingmed, Horten, Norway).

In all patients, the left ventricle endocardial border in the end-systolic frame was manually traced during the automatically selected next to last cycle. Based on this line, the software automatically created a region of interest that included the mid layer of the ventricular wall. Linear drift compensation was applied. In the present study, peak systolic longitudinal strain and strain rate were assessed in the six LV regions in the apical four-chamber view, and their average values were displayed by the device expressed as global longitudinal strain and strain rate (Figure 1). Strain and strain rate analyses of all included patients were performed by the same observer who was blind to the clinical condition of the infants.

Statistical analysis

Patient characteristics were described as rates (%) or median and interquartile ranges (IQR). To describe the intra-observer variability of the speckle tracking parameters, 20 randomly selected patients were reevaluated by the same investigator (SR) on two separate occasions and the coefficient of variation (CV) calculated for the four measurement points. To describe inter-observer variability, the same procedure was repeated by a second

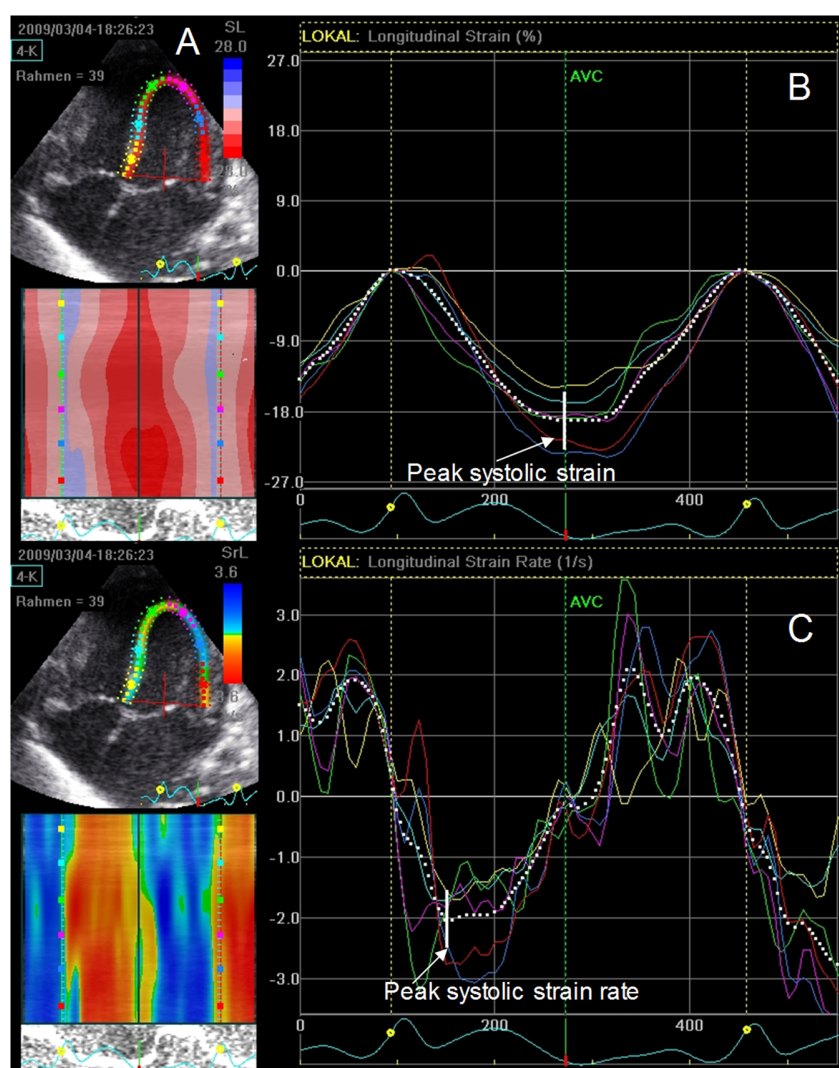


Figure 1. Measurement of peak systolic strain and strain rate. (A) 2D apical four-chamber view of the left ventricle with region of interest (in color with each color representing one of six segments) encompassing endo- and epicardium for 2D strain and strain rate analysis. (B) Global longitudinal strain (white dotted line) was calculated by averaging measurements of six segments in the apical four-chamber view. (C) Global longitudinal strain rate (white dotted line) was calculated by averaging measurements of six segments in the apical four-chamber view. doi:10.1371/journal.pone.0106504.g001

observer (CC). The CVs of the repeated measurements were presented as medians and quartiles and the Friedman test was used to investigate the changes in intra- and inter-observer variability at the four time points. The Kruskal-Wallis test was used to compare the intra- and inter-observer variability between the different speckle tracking parameters. The Intraclass correlation coefficient (absolute agreement) (ICC) of the pooled data was calculated to describe the reliability of the speckle tracking measurements. The anthropometric and cardiological parameters measured and calculated were depicted as median and IQR in the text and in the figures: differences at the 4 measurement time points were investigated using the Friedman test. To investigate differences in the parameter development between infants with and without BPD development or hsPDA, a two-factor ANOVA for repeated measurements with BPD or hsPDA as a between-subject factor was used. If statistically significant differences in the parameter development emerged, median and IQR of these parameters were calculated for both patient groups at the four time points and the

Mann-Whitney rank test was used post hoc to investigate the differences. The relationships LVO, FS, GLSSR and LSSR with the heart rate were assessed by Spearman rank order correlation coefficients (R_s). The Bonferroni method was used as an alpha adjustment for multiple comparisons. Statistical analysis was performed using Statgraphics Centurion (Version 16.0, Statpoint Inc., Herndon, Virginia, USA) and MedCalc (Version 9.2.0.2; MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) software. A p-value below 0.05 was considered the limit for statistical significance.

Results

Subjects

The patient characteristics of the 119 VLBW infants investigated are shown in Table 1. About two thirds of enrolled patients required mechanical ventilation during the first 4 weeks of life. A total of 36 (30%) infants developed BPD and 33 (28%) infants required PDA intervention. 34 of 36 (94%) BPD infants were

mechanically ventilated. BPD infants had a significantly lower gestational age (25.5 (24–26.5) weeks vs. 29 (27–30) weeks, $p < 0.001$) and birth weight (661 (552–871) g vs. 1100 (890–1290) g, $p < 0.001$). The median age for ductus closure was between the second and third week of life. 27 of 36 (75%) BPD infants needed a PDA intervention.

Reproducibility of the speckle tracking parameters

Table 2 shows intra-observer variability measured by the CV of the speckle tracking parameters. After Bonferroni correction, there were no statistically significant differences in intra-observer variability among the four time points. It was also noted that the CVs of inter-observer variability were not dependent on time of measurement, as shown in Table 3. Therefore the intra- and inter-observer CVs of the four time points were pooled and the ICC calculated (Table 4).

As shown in Table 4, there were distinct differences in the CVs between the parameters measured. The best reproducibility with the lowest intra-observer variability was seen with the longitudinal systolic strain (ICC = 0.911) and strain rate (ICC = 0.89) of the mid septum with a median CV = 3.7% for both. Compared to the mid septum, the CVs of the left wall were distinctly higher. The highest intra-observer variability was found in the apical segment.

After Bonferroni correction, the CVs of inter-observer variability did not differ significantly from the intra-observer CVs (Table 4). The lowest inter-observer variabilities and the highest ICC were also seen for the global longitudinal peak systolic strain rate (median CV 3.9%, ICC = 0.938) and longitudinal systolic strain and strain rate of the mid septum (median CV \leq 4.6%, ICC \geq 0.9). Much higher variabilities (CV > 10%) were seen for the apical segment.

Anthropometric, hemodynamic and speckle tracking parameters

Table 5 summarizes the results of the anthropometric, conventional haemodynamic and speckle tracking measurements. It was not possible to obtain complete data at all 4 times of measurement for all 119 infants due to a lack of documentation of anthropometric data or suboptimal imaging quality. Table 5 shows the number of infants with complete data sets for each parameter at all four time points. The number of complete data sets of the left wall was lower than for the septum due to the poorer image quality of the left wall.

The results indicate statistically significant differences between the four measurement time points for all parameters except for almost all speckle tracking parameters. Body weight, body length and blood pressure increased continuously during the neonatal period. Heart rate and fractional shortening as well as LVO differed statistically significantly only during the first days of life; on day 7, 14 and 28 these parameters did not show any statistically significant changes.

For the speckle tracking parameters only the longitudinal peak systolic strain (LSS) for the septum apical segment showed statistically significant parameter development after Bonferroni correction of the p-value. However, LSS was only significantly reduced at day 1; on day 7, 14 and 28 LSS did not show statistically significant changes ($p = 0.114$).

Parameter development in infants with and without developing BPD or hsPDA

The differences in the development of anthropometric, conventional hemodynamic, and speckle tracking parameters between infants with and without BPD or with and without hsPDA are shown in Table 6. The development of the anthropometric parameters, blood pressure, FS and LVO differed significantly in infants who developed a BPD or hsPDA. Only two speckle tracking parameter were affected by developing BPD but not by hsPDA. After Bonferroni correction, there was no statistically significant interaction between BPD or hsPDA and age.

The development of bodyweight and body length in infants with and without BPD at day 28 is shown in Fig. 2. Despite the overall lower average weight and gestational age of infants with BPD, they evidenced comparable growth to infants without BPD. Similar development was seen for the blood pressure values as shown by systolic blood pressure exemplarily (Fig. 3). Parameter development of LVO (Fig. 3) and FS (Fig. 4) was more complex. Both were higher in patients who developed a BPD compared to infants without BPD. LVO differed statistically significantly between the two patient groups at day 7 and 14, though these differences disappeared by day 28. FS showed the greatest variation at day 7, after which the difference decreased. We did not find a significant correlation between both parameters and heart rate (all p-values > 0.11) at any time of measurement.

Of the speckle tracking parameters, only the development of GLSSR and LSSR for the left wall mid segment were different

Table 1. Characteristics of the study population (N = 119) (Data given as median (IQR) or n(%)).

	No (%)	Median (IQR)
Gestational age (weeks)		27 (26.0–29.0)
Birth weight (g)		996 (745–1200)
SGA	37 (31%)	
Male	58 (49%)	
Antenatal steroids for fetal lung maturation	110 (92%)	
Surfactant administration	101 (85%)	
Mechanical ventilation	76 (64%)	
BPD	36 (30%)	
PDA intervention	33 (28%)	
Time of PDA intervention (days)		19 (14–24)
Alive	116 (97%)	

doi:10.1371/journal.pone.0106504.t001

Table 2. Intra-observer variability of the speckle tracking parameters measured by the coefficient of variation of repeated measurements at day of life (DOL) 1, 7, 14, and 28.

Parameter	DOL 1	DOL 7	DOL 14	DOL 28	P-value
Global longitudinal peak systolic strain	4.3%	5.3%	5.2%	5.5%	0.810
	(0.9%–7.4%)	(3.2%–9.3%)	(2.6%–9.9%)	(1.6%–8.9%)	
Global longitudinal peak systolic strain rate	3.6%	3.9%	6.5%	4.6%	0.842
	(1.1%–11.4%)	(2.2%–9.9%)	(2.5%–12.0%)	(2.6%–8.3%)	
<i>Longitudinal peak systolic strain</i>					
Septum					
basal	6.0%	6.1%	5.9%	4.8%	0.354
	(3.9%–8.7%)	(2.3%–8.9%)	(3.8%–10.7%)	(2.5%–7.2%)	
mid	4.3%	3.9%	3.2%	3.4%	0.492
	(2.6%–9.6%)	(2.5%–9.7%)	(2.2%–4.4%)	(1.7%–7.9%)	
apical	10.9%	13.2%	9.2%	9.8%	0.678
	(4.6%–30.3%)	(7.2%–19.5%)	(5.5%–16.4%)	(4.6%–14.6%)	
Left wall					
basal	13.7%	15.4%	10.7%	9.2%	0.526
	(5.6%–23.3%)	(6.4%–35.5%)	(2.5%–26.6%)	(2.9%–29.5%)	
mid	7.5%	11.8%	10.5%	11.3%	0.785
	(2.4%–14.2%)	(7.6%–24.6%)	(4.4%–16.6%)	(5.4%–23.0%)	
apical	16.6%	9.8%	22.3%	11.8%	0.611
	(8.7%–24.7%)	(2.4%–25.9%)	(10.9%–35.2%)	(7.6%–24.6%)	
<i>Longitudinal peak systolic strain rate</i>					
Septum					
basal	8.3%	4.5%	6.8%	7.2%	0.392
	(5.2%–14.9%)	(2.9%–8.8%)	(3.2%–8.6%)	(2.1%–9.7%)	
mid	3.3%	4.4%	5.2%	3.1%	0.260
	(1.3%–7.7%)	(2.0%–10.4%)	(2.4%–7.9%)	(2.0%–7.2%)	
apical	7.9%	9.7%	9.0%	9.4%	0.975
	(2.9%–16.5%)	(5.9%–16.4%)	(5.9%–17.7%)	(3.6%–13.7%)	
Left wall					
basal	17.1%	12.2%	5.1%	6.3%	0.026
	(13.7%–23.6%)	(4.5%–23.0%)	(2.4%–15.6%)	(3.4%–13.9%)	
mid	10.5%	10.0%	12.2%	12.9%	0.654
	(5.9%–18.2%)	(4.7%–22.3%)	(5.1%–19.1%)	(6.0%–19.0%)	
apical	10.1%	19.9%	25.1%	15.2%	0.126
	(3.8%–19.4%)	(7.7%–20.0%)	(7.7%–33.1%)	(9.0%–20.8%)	

Presented are median and interquartile range, statistical significance after Bonferroni correction for $p < 0.0036$.
doi:10.1371/journal.pone.0106504.t002

between infants with and without BPD (both $p < 0.001$). The effect of hsPDA on both parameters was lower with $p = 0.006$ for GLSSR and $p = 0.004$ for LSSR (Table 6) and after Bonferroni correction ($p < 0.0023$) above the limit of statistical significance.

The development of GLSSR and LSSR in infants with and without BPD at day 28 is shown in Fig. 5. In infants without BPD, there was a slight increase of the absolute GLSSR value during the first two weeks. In infants with BPD, values were significantly higher during the first week of life after which the differences disappeared. As with GLSSR, there was an increase in left wall mid segment LSSR during the first two weeks in infants without BPD, whereas in infants who developed a BPD the values were always higher and trended slightly down. The differences were

greatest at day 1 and decreased during the first 4 weeks of life. At day of life 28, the left wall mid segment LSSR was nearly the same for infants with and without BPD. There was no statistically significant correlation between both speckle tracking parameters and heart rate except for GLSSR at day 1 ($R_s = -0.2653$, $p = 0.015$) which would disappear after Bonferroni correction.

Discussion

This study has shown that speckle tracking measurements of the left ventricle can be performed in VLBW infants with good reproducibility for the longitudinal systolic strain and strain rate, especially of the mid septum. While anthropometric parameters

Table 3. Inter-observer variability of the speckle tracking parameters measured by the coefficient of variation of two different observers at day of life (DOL) 1, 7, 14, and 28.

Parameter	DOL 1	DOL 7	DOL 14	DOL 28	P-value
Global longitudinal peak systolic strain	3.8%	4.0%	6.6%	5.2%	0.119
	(1.6%–6.9%)	(1.5%–6.7%)	(2.5%–13.3%)	(3.1%–7.7%)	
Global longitudinal peak systolic strain rate	3.8%	4.9%	3.4%	4.9%	0.686
	(1.6%–8.8%)	(1.9%–7.1%)	(2.0%–5.4%)	(2.3%–6.6%)	
<i>Longitudinal peak systolic strain</i>					
Septum					
basal	8.9%	2.0%	5.8%	8.5%	0.134
	(4.5%–14.3%)	(1.2%–10.4%)	(3.9%–14.6%)	(2.9%–14.5%)	
mid	5.2%	3.4%	4.1%	5.6%	0.648
	(4.5%–14.3%)	(1.9%–8.3%)	(1.9%–6.6%)	(2.0%–9.9%)	
apical	11.4%	5.4%	5.4%	7.8%	0.325
	(6.2%–16.8%)	(2.7%–10.2%)	(3.1%–11.8%)	(2.6%–14.9%)	
Left wall					
basal	6.6%	9.6%	19.4%	11.1%	0.093
	(4.9%–19.7%)	(3.5%–14.3%)	(13.3%–29.8%)	(6.5%–20.5%)	
mid	6.2%	6.5%	14.8%	6.5%	0.134
	(2.8%–13.2%)	(1.5%–17.7%)	(4.9%–24.2%)	(3.3%–12.7%)	
apical	9.0%	9.2%	14.9%	6.7%	0.187
	(3.8%–18.2%)	(5.9%–17.8%)	(10.5%–30.4%)	(2.5%–23.0%)	
<i>Longitudinal peak systolic strain rate</i>					
Septum					
basal	8.2%	6.5%	7.5%	4.8%	0.121
	(7.1%–13.7%)	(1.9%–9.0%)	(4.5%–11.9%)	(3.2%–10.4%)	
mid	5.5%	4.4%	3.6%	6.4%	0.860
	(2.9%–7.3%)	(3.1%–6.8%)	(2.1%–7.8%)	(1.9%–11.1%)	
apical	7.9%	9.7%	9.0%	9.4%	0.903
	(2.9%–16.5%)	(5.9%–16.4%)	(5.9%–17.7%)	(3.6%–13.7%)	
Left wall					
basal	11.2%	8.9%	10.4%	9.2%	0.418
	(6.8%–16.9%)	(6.4%–10.6%)	(6.8%–14.0%)	(2.2%–15.5%)	
mid	7.9%	9.3%	8.7%	3.8%	0.550
	(4.2%–13.5%)	(4.2%–18.0%)	(3.7%–13.1%)	(1.8%–14.2%)	
apical	8.6%	11.2%	13.5%	9.4%	0.550
	(4.6%–12.1%)	(5.4%–21.8%)	(4.7%–21.1%)	(6.1%–21.1%)	

Presented are median and interquartile range.
doi:10.1371/journal.pone.0106504.t003

show rapid development during these infants' first 4 weeks of life [24], the speckle tracking parameters did not differ statistically significant during the neonatal period. To our knowledge, the present study is the first single-center study in which the development of speckle tracking parameters was investigated in infants who subsequently did and did not develop BPD.

In contrast to the development of the anthropometric parameters, our results demonstrate that initial age-related changes in LSS of the septum apical segment diminished after the second week of life. This agrees with the findings Seghal et al 2011 achieved using conventional hemodynamic measurements [25]. They described the rapid changes that occur in cardiovascular adaptation during the transition from intrauterine to extrauterine

life for preterm birth. The elevation of the speckle tracking parameters in the first week of life is also associated with changes in some physiologically important aspects of neonatal hemodynamic and conventional echocardiographic parameters, including cardiac output, heart rate, blood pressure and FS as shown in Table 5.

Additionally, the myocardium in VLBW infants is exposed to additional significant changes in loading conditions during the early neonatal period. A PDA is a very common finding in preterm infants that results in chronic left ventricular volume loading. This left ventricular volume loading may be reflected in our results on the development of conventional hemodynamic and echocardiographic parameters, because most infants in the BPD

Table 4. Comparison of intra- and inter-observer variability of the speckle tracking parameters by the coefficient of variation and intraclass-correlation coefficient.

Parameter	Intra-observer variability		Inter-observer variability		P-value ¹⁾
	Coefficient of variation	Intraclass-correlation coefficient	Coefficient of variation	Intraclass-correlation coefficient	
Global longitudinal peak systolic strain	5.1%	0.884	4.7%	0.904	0.861
	(1.8%–9.0%)		(1.7%–7.8%)		
Global longitudinal peak systolic strain rate	4.5%	0.890	3.9%	0.938	0.195
	(2.2%–9.6%)		(2.2%–6.4%)		
<i>Longitudinal peak systolic strain</i>					
Septum					
basal	5.5%	0.913	6.7%	0.914	0.370
	(3.3%–8.5%)		(2.4%–12.3%)		
mid	3.7%	0.911	4.6%	0.918	0.622
	(2.2%–7.8%)		(2.0%–8.8%)		
apical	10.8%	0.832	6.7%	0.829	0.014
	(5.5%–17.1%)		(3.0%–14.1%)		
Left wall					
basal	12.7%	0.845	11.8%	0.866	0.595
	(4.8%–28.1%)		(5.8%–22.0%)		
mid	10.3%	0.846	8.1%	0.900	0.120
	(4.5%–19.7%)		(2.8%–16.4%)		
apical	13.7%	0.835	10.4%	0.832	0.090
	(7.4%–29.1%)		(4.2%–23.4%)		
<i>Longitudinal peak systolic strain rate</i>					
Septum					
basal	7.0%	0.868	7.1%	0.866	0.668
	(3.1%–9.9%)		(3.7%–10.6%)		
mid	3.7%	0.890	4.4%	0.900	0.513
	(2.0%–8.2%)		(2.4%–8.0%)		
apical	8.7%	0.897	7.7%	0.903	0.161
	(4.9%–16.4%)		(3.2%–11.6%)		
Left wall					
basal	9.9%	0.786	9.9%	0.758	0.469
	(4.8%–19.7%)		(4.8%–13.9%)		
mid	11.3%	0.814	8.7%	0.824	0.010
	(5.3%–18.7%)		(3.7%–13.1%)		
apical	14.0%	0.832	10.8%	0.864	0.120
	(7.3%–27.5%)		(4.7%–20.6%)		

Presented are median and interquartile range; statistical significance after Bonferroni correction for $p < 0.0036$.

¹⁾Comparison of the coefficient of variation between intra- and inter-observer variability.

doi:10.1371/journal.pone.0106504.t004

group who have increased FS and LVO at day 7 and 14 (Fig. 3 and 4) needed a subsequent PDA intervention.

The changes in hemodynamic parameters associated with PDA have been well studied in surfactant-treated preterm lambs [26] and confirmed in preterm neonates using Doppler echocardiography [27]. Premature lambs were able to more than double their left ventricular output when challenged with increasing degrees of left-to-right shunt through a PDA. This increase in cardiac output was achieved through an increase in stroke volume, primarily as a result of decreased afterload resistance on the heart and increased

left ventricular preload. Lindner et al. and Shimada et al. confirmed that under the hemodynamic conditions associated with symptomatic PDA, ventilated preterm neonates increased LVO by increasing stroke volume [28,29]. This was also reflected in our results, where we did not find any correlation between LVO and heart rate. Thus we expected hsPDA would have a greater influence on the speckle tracking parameters than the development of a BPD, but surprisingly found only a statistically significant influence of BPD here. Unfortunately, we could not investigate the effect of hsPDA and BPD patients separately because most

Table 5. Development of anthropometric, conventional hemodynamic and speckle tracking parameters during the neonatal period.

Parameter	N	DOL 1	DOL 7	DOL 14	DOL 28	p-value
<i>Anthropometric parameters</i>						
Body weight (g)	117	970 (749.5–1198)	978 (758–1214)	1135 (842–1400)	1460 (1035–1792)	<0.001
Body length (cm)	114	36 (33–38)	37 (34–39)	37 (34–40)	39.5 (36–42)	<0.001
<i>Conventional hemodynamic and echocardiographic parameters</i>						
Heart rate (beat/min)	96	152 (142–159.5)	164 (155–173)	164 (153–173)	164 (152–174)	<0.001
Systolic blood pressure (mm Hg)	96	49 (42–57)	57 (50–64)	60 (53–66)	65 (57–73.5)	<0.001
Diastolic blood pressure (mm Hg)	96	33 (27.5–37)	35 (29–41)	35 (28–41)	39 (32–47)	<0.001
Mean blood pressure (mm Hg)	96	38 (33.5–42.5)	43 (36–48)	42 (37.5–48.5)	48 (42–54)	<0.001
Fractional shortening (%)	96	30.6 (26.9–35.7)	34.9 (29.0–40.1)	34.7 (30.4–40.2)	34.9 (29.7–38.3)	<0.001
LVO (mL/min/kg)	91	311 (242–390)	360 (289–468)	388 (291–500)	550 (441–683)	<0.001
<i>Speckle tracking parameters</i>						
Global longitudinal peak systolic strain (%)	96	–15.05 (–15.5––12.6)	–15.15 (–16.8––12.6)	–15.5 (–17.4––13.4)	–15.05 (–17.4––13.4)	0.712
Global longitudinal peak systolic strain rate (1/sec)	96	–1.4 (–1.7––1.2)	–1.5 (–1.85––1.3)	–1.6 (–1.8––1.35)	–1.6 (–1.75––1.4)	0.023
Longitudinal peak systolic strain (%)						
Septum						
basal	96	–15.7 (–17.9––12.8)	–15.8 (–17.3––12.7)	–15.7 (–17.7––13.0)	–14.6 (–17.0––12.6)	0.438
mid	97	–16.6 (–19.4––14.7)	–17.0 (–18.7––14.2)	–17.2 (–19.0––15.5)	–16.9 (–18.9––14.8)	0.552
apical	83	–16.3 (–19.8––11.8)	–16.4 (–20.4––13.0)	–18.4 (–22.0––14.6)	–17.9 (–21.4––15.3)	0.030
Left wall						
basal	76	–13.7 (–18.4––7.3)	–12.8 (–17.3––8.7)	–12.2 (–18.4––7.9)	–12.6 (–16.7––8.2)	0.737
mid	84	–12.7 (–18.0––7.8)	–11.6 (–15.1––8.4)	–13.5 (–17.5––10.1)	–13.4 (–16.3––10.4)	0.203
apical	65	–12.2 (–18.3––7.2)	–12.7 (–18.9––8.9)	–17.4 (–20.9––9.3)	–16.6 (–21.5––10.5)	0.202
Longitudinal peak systolic strain rate (1/sec)						
Septum						
basal	93	–1.66 (–1.95––1.41)	–1.75 (–2.03––1.56)	–1.71 (–2.05––1.56)	–1.69 (–1.95––1.48)	0.332
mid	97	–1.66 (–1.97––1.45)	–1.79 (–2.0––1.62)	–1.83 (–2.12––1.58)	–1.81 (–2.0––1.6)	0.043
apical	84	–1.78 (–2.29––1.44)	–1.98 (–2.46––1.58)	–2.14 (–2.67––1.77)	–2.18 (–2.52––1.72)	0.001
Left wall						
basal	86	–2.07 (–2.62––1.67)	–2.21 (–2.56––1.83)	–2.0 (–2.39––1.72)	–1.99 (–2.46––1.59)	0.157

Table 5. Cont.

Parameter	N	DOL 1	DOL 7	DOL 14	DOL 28	p-value
mid	91	-1.57 (-1.95--1.28)	-1.72 (-2.0--1.37)	-1.65 (-1.95--1.42)	-1.78 (-2.07--1.45)	0.358
apical	79	-1.51 (-2.28--1.13)	-1.7 (-2.63--1.26)	-1.96 (-2.35--1.31)	-1.86 (-2.4--1.46)	0.041

Presented are median and interquartile range in brackets; statistically significant p-values of the Friedman test after Bonferroni correction ($p < 0.0023$) are printed in bold.

N- Number of infants with complete data in the follow up, DOL- day of life, LVO - Left ventricular output.

doi:10.1371/journal.pone.0106504.t005

Table 6. Influence of BPD development and hemodynamically patent ductus arteriosus (hsPDA) on the measured parameters during the neonatal period.

Parameter	BPD			hsPDA		
	BPD	DOL	Interaction	hsPDA	DOL	Interaction
<i>Anthropometric parameters</i>						
Body weight (g)	<0.001	<0.001	0.008	<0.001	<0.001	0.027
Body length (cm)	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	<0.001	0.037
<i>Conventional hemodynamic and echocardiographic parameters</i>						
Heart rate (beat/min)	0.277	<0.001	0.182	0.219	<0.001	0.004
Blood pressure (mm Hg)						
systolic	<0.001	<0.001	0.096	<0.001	<0.001	0.083
diastolic	0.001	<0.001	0.182	<0.001	<0.001	0.152
mean	<0.001	<0.001	0.207	<0.001	<0.001	0.103
Fractional shortening (%)	<0.001	<0.001	0.183	0.003	<0.001	0.114
LVO (mL/min/kg)	0.001	<0.001	0.076	0.001	<0.001	0.015
<i>Speckle tracking parameters</i>						
Global longitudinal peak systolic strain (%)	0.032	0.597	0.407	0.084	0.791	0.150
Global longitudinal peak systolic strain rate (1/sec)	<0.001	0.009	0.098	0.006	0.009	0.080
Longitudinal peak systolic strain (%)						
Septum						
basal	0.829	0.916	0.187	0.287	<0.001	0.118
mid	0.960	0.592	0.254	0.213	<0.001	0.037
apical	0.711	0.003	0.254	0.359	0.006	0.023
Left wall						
basal	0.097	0.960	0.042	0.111	<0.001	0.060
mid	0.159	0.218	0.020	0.107	0.334	0.062
apical	0.435	0.087	0.044	0.748	0.111	0.049
Longitudinal peak systolic strain rate (1/sec)						
Septum						
basal	0.214	0.260	0.048	0.241	0.241	0.407
mid	0.085	0.039	0.217	0.084	0.057	0.104
apical	0.016	0.016	0.696	0.184	0.018	0.304
Left wall						
basal	0.012	0.046	0.591	0.179	0.043	0.539
mid	<0.001	0.591	0.107	0.004	0.584	0.335
apical	0.112	0.214	0.371	0.071	0.279	0.483

Presented are the p-values of the ANOVA for repeated measurements with the patient group as between-subject factor; p-values for statistically significant effect after Bonferroni correction ($p < 0.0023$) are printed in bold.

DOL - Day of life, LVO - Left ventricular output.

doi:10.1371/journal.pone.0106504.t006

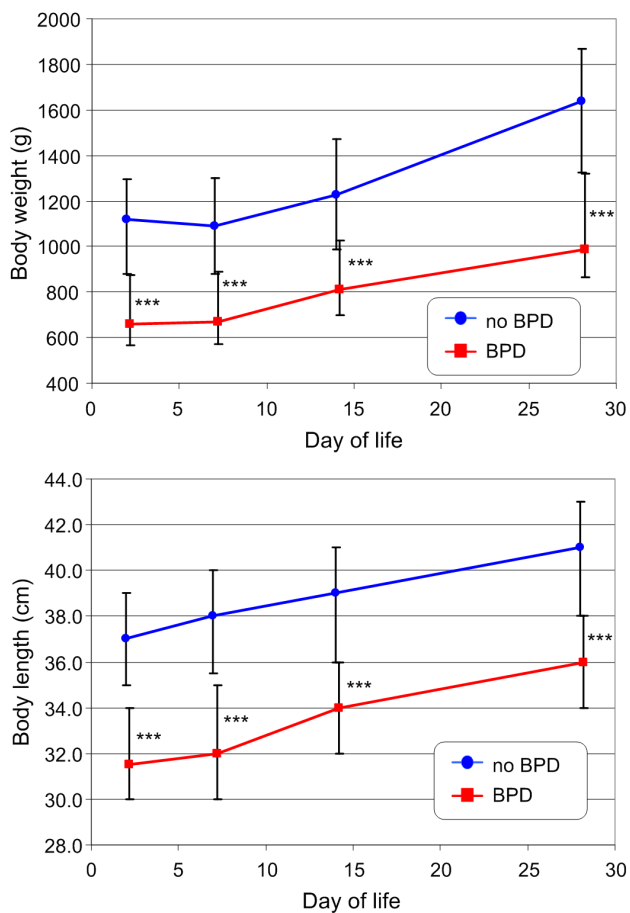


Figure 2. Development of body weight (top) and body length (bottom) in VLBW infants with and without BPD during the first four weeks of life. Presented are median with interquartile range; statistical significant differences between the patient groups are marked: *** - $p < 0.001$. doi:10.1371/journal.pone.0106504.g002

patients with BPD needed PDA intervention. Furthermore, although there are studies that associate PDA with the development of BPD, there is no literature that identifies specific clinical predictors of BPD in preterm infants. Moreover, in their study Chock et al. found that only lower gestational age, and not PDA treatment or Echo score, was associated with the adverse outcome of BPD [30].

Myocardial strain rates are strong indices of LV contractility [31,32]. Thus far no studies have identified which strain rate changes derived from speckle tracking are detectable in preterm infants with and without BPD development. Our speckle tracking measurements revealed that infants with BPD have higher GLSSR than infants without these morbidities. These findings were also detectable in the strain rate measurement of the left wall mid segment. We speculate that this free wall segment of the LV is quite sensitive to changes in myocardial contractility.

Although recent studies have described not only alterations in right ventricular function in patients with BPD and pulmonary hypertension but also alterations in LV [21,33–35], the mechanisms of these left ventricular alterations are not fully understood. In a previous paper from our group, we showed that the right ventricular index of myocardial performance values was significantly higher in infants with a subsequent diagnosis of BPD

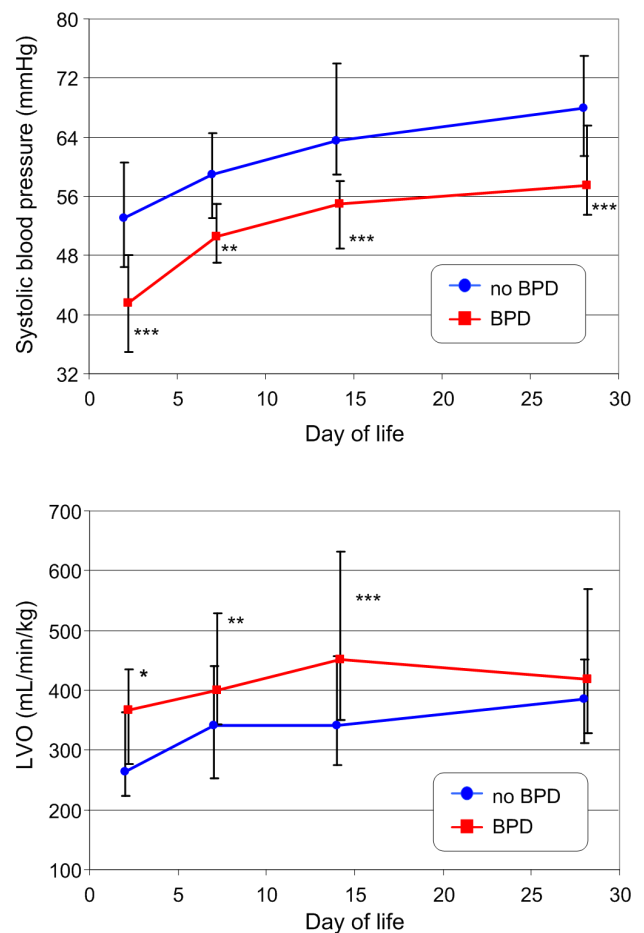


Figure 3. Development of systolic blood pressure (top) and left ventricular cardiac output (bottom) in VLBW infants with and without BPD during the first four weeks of life (the mode of presentation is the same as that in Figure 2). * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$. doi:10.1371/journal.pone.0106504.g003

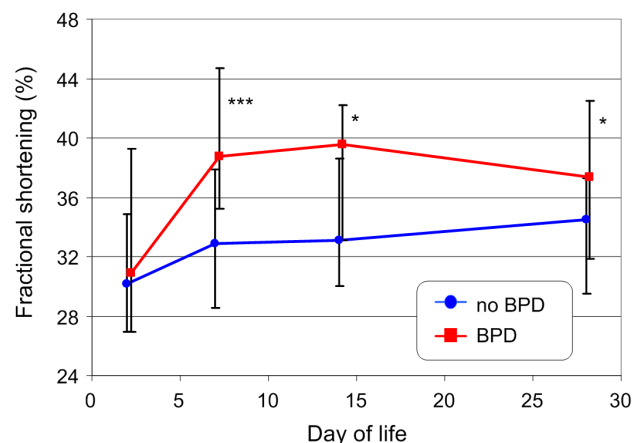


Figure 4. Development of fractional shortening in VLBW infants with and without BPD during the first four weeks of life (the mode of presentation is the same as that in Figure 2). * - $p < 0.05$; *** - $p < 0.001$. doi:10.1371/journal.pone.0106504.g004

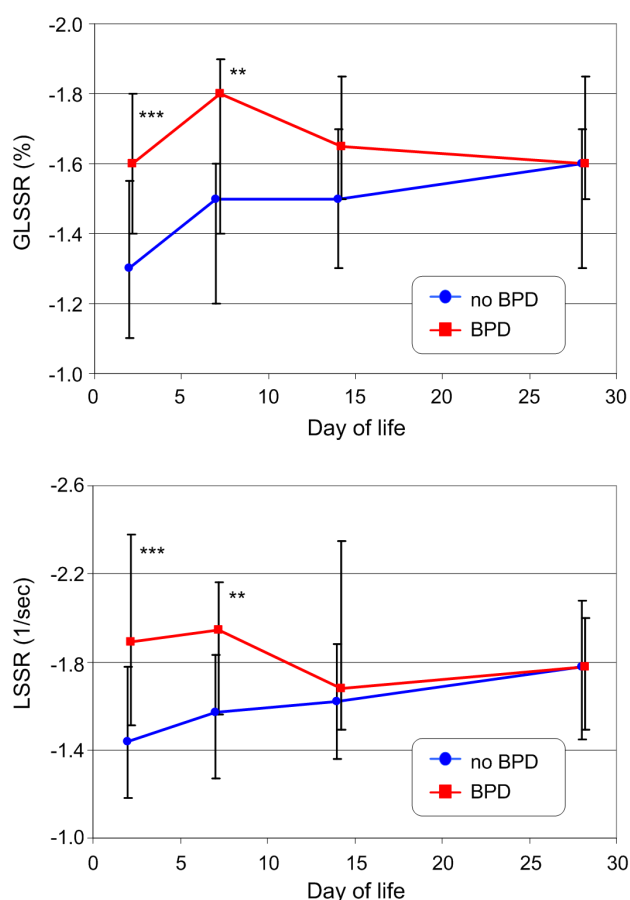


Figure 5. Development of the global longitudinal peak systolic strain rate (GLSSR) (top) and the longitudinal peak systolic strain rate (LSSR) for the mid left wall segment (bottom) in VLBW infants with and without BPD during the first four weeks of life (the mode of presentation is the same as that in Figure 2). ** - $p < 0.01$; * - $p < 0.001$**
doi:10.1371/journal.pone.0106504.g005

compared to controls, indicating increased pulmonary vascular resistance (PVR) [36]. But we did not measure pulmonary artery pressure and resistance because, to our knowledge, the sensitivity of the commonly used echocardiographic parameters (e.g. tricuspid regurgitant jet, septal displacement, or right atrial enlargement) is questionable in preterm infants and the invasive measurement of PVR is difficult to perform in neonates. Thus we were unable to demonstrate that the observed increment in the speckle tracking parameters in our patients who developed a BPD occurred as consequence of increased PVR. Moreover, our BPD patients did not have significant left ventricular hypertrophy or systemic hypertension.

The etiology of LV changes in children and adults with chronic lung disease is still poorly understood. The altered LV function in patients with obstructive pulmonary disease has been explained by either a shift of the interventricular septum toward the LV cavity or circumferential myocardial fiber changes that impact contractile function [37]. Our patients did not show evidence of septal flattening or a shift into the LV cavity, and we found no differences in the septal speckle tracking measurements.

Many studies have also shown that infants with severe BPD develop systemic hypertension, and that the abnormal LV myocardial performance index may be caused by changes in

systemic vascular resistance [38,39]. No patients in our study had systemic hypertension though. This might explain why we did not find additional changes in LV in our study group, as described by Hardegree et al. [21].

In our population, the magnitude of longitudinal deformation was different than in other studies that investigated speckle tracking parameters in mature newborns, infants or adolescents. Lorch et al. and Marcus et al. describe normal values and maturational changes in LV longitudinal deformation from birth to adolescence in large pediatric cohorts [9,10]. The authors found strain values of approximately 18% for the age group below 1 year. Conversely, Elkiran et al. found lower values for the longitudinal deformation of the left ventricle in less immature newborns with a gestational age between 36 and 37 weeks. It is difficult to compare our results to these studies because they were performed using a variety of ultrasound equipment and speckle tracking analysis software. Moreover, we think that lower longitudinal deformation values in VLBW infants are most likely explained by the immaturity of the heart and the higher alterations in cardiac loading conditions, contractility, myocardial function and histological structure of the ventricular myocardium after birth.

This study has a number of strengths and limitations. The main strengths include the longitudinal measurements over 4 weeks using a large sample size with the same investigator. We used the same equipment and protocol for all patients. The study was limited by offline speckle tracking analysis. We were unable to investigate the effect of mechanical ventilation on parameter development in BPD infants because nearly all (94%) BPD infants required mechanical ventilation during the first days of life. Mechanical ventilation could alter the pre- and after-load conditions, though we found no such effect in a previous study [36]. Still we cannot exclude that due to the poor tracking in the apical region, n-CPAP or mechanical ventilation might have large impacts on the measurements. Furthermore, since the number of BPD infants was relatively low, we did not define the severity of BPD. Because almost all very immature infants developed a BPD, we cannot assess the extent to which prematurity per se contributes to the differences in parameter development. Thus we are unable at present further correlate changes in LV performance with the severity of BPD.

The Bonferroni correction used to counteract the problem of multiple comparisons is a common method. However, it is a conservative method and may increase type 2 errors. There are also technical limitations. The dependence of 2D-STE imaging on the frame-by-frame tracking of the myocardial pattern means it is influenced by image factors, including reverberation artefacts and attenuation. Finally, we measured only longitudinal strain and strain rate, and not radial or circumferential strain.

In conclusion, our study demonstrates that measuring LV longitudinal systolic strain and strain rate derived by speckle tracking is feasible in VLBW infants. The development of the derived parameters differs from the development of anthropometric and hemodynamic parameters during the first weeks of life and is also influenced by morbidity such as BPD. Further studies should focus on real-time speckle tracking and volume monitoring because this new technique allows LV volumes to be measured without manual tracing.

Acknowledgments

We are very grateful to Sarah Smithson-Compton, MA for editorial assistance.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: CC LS. Performed the experiments: CC LS SR. Analyzed the data: SR SH. Contributed reagents/materials/analysis tools: SR GS. Wrote the paper: CC GS CB.

References

- Friedman AH, Fahey JT (1993) The transition from fetal to neonatal circulation: normal responses and implications for infants with heart disease. *Semin Perinatol* 17: 106–21.
- Rudolph AM (2009) Congenital cardiovascular malformations and the fetal circulation. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed* 95: F132–F136.
- Christou H, Brodsky D (2005) Lung Injury and Bronchopulmonary Dysplasia in Newborn Infants. *J Intensive Care Med* 20: 76–87.
- Schneider DJ, Moore JW (2006) Patent Ductus Arteriosus. *Circulation* 114: 1873–82.
- Madurga A, Miziková I, Ruiz-Camp J, Morty RE (2013) Recent advances in late lung development and the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 305: 893–905.
- Berkelhamer SK, Mestan KK, Steinhorn RH (2013) Pulmonary hypertension in bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 37: 124–31.
- Dragulescu A, Mertens LL (2010) Developments in echocardiographic techniques for the evaluation of ventricular function in children. *Arch Cardiovasc Dis* 103: 603–14.
- Mondillo S, Galderisi M, Mele D, Cameli M, Lomoriello VS, et al. (2011) Speckle-Tracking Echocardiography A New Technique for Assessing Myocardial Function. *J Ultrasound Med* 30: 71–83.
- Cameli M, Lisi M, Righini FM, Mondillo S (2012) Novel echocardiographic techniques to assess left atrial size, anatomy and function. *Cardiovasc Ultrasound* 10: 4.
- Dandel M, Hetzer R (2009) Echocardiographic strain and strain rate imaging – Clinical applications. *Int J Cardiol* 132: 11–24.
- Lorch SM, Ludomirsky A, Singh GK (2008) Maturation and Growth-Related Changes in Left Ventricular Longitudinal Strain and Strain Rate Measured by Two-Dimensional Speckle Tracking Echocardiography in Healthy Pediatric Population. *J Am Soc Echocardiogr* 21: 1207–15.
- Marcus KA, Mavinkurve-Groothuis AMC, Barends M, van Dijk A, Feuth T, et al. (2011) Reference Values for Myocardial Two-Dimensional Strain Echocardiography in a Healthy Pediatric and Young Adult Cohort. *J Am Soc Echocardiogr* 24: 625–36.
- Marcus KA, Barends M, Morava-Kozic E, Feuth T, de Korte CL, et al. (2011) Early detection of myocardial dysfunction in children with mitochondrial disease: an ultrasound and two-dimensional strain echocardiography study. *Mitochondrion* 11: 405–12.
- Friedberg MK, Slorach C (2008) Relation Between Left Ventricular Regional Radial Function and Radial Wall Motion Abnormalities Using Two-Dimensional Speckle Tracking in Children With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 102: 335–9.
- Gorcsan J III, Tanaka H (2011) Echocardiographic Assessment of Myocardial Strain. *J Am Coll Cardiol* 58: 1401–13.
- Amundsen BH, Crosby J, Steen PA, Torp H, Slordahl SA, et al. (2009) Regional myocardial long-axis strain and strain rate measured by different tissue Doppler and speckle tracking echocardiography methods: a comparison with tagged magnetic resonance imaging. *Eur J Echocardiogr* 10: 229–37.
- Aase SA, Torp H, Støylen A (2008) Aortic valve closure: relation to tissue velocities by Doppler and speckle tracking in normal subjects. *Eur J Echocardiogr* 9: 555–9.
- Nestaas E, Støylen A, Brunvand L, Fugelseth D (2011) Longitudinal strain and strain rate by tissue Doppler are more sensitive indices than fractional shortening for assessing the reduced myocardial function in asphyxiated neonates. *Cardiol Young* 21: 1–7.
- Nestaas E, Skranes JH, Støylen A, Brunvand L, Fugelseth D (2014) The myocardial function during and after whole-body therapeutic hypothermia for hypoxic-ischemic encephalopathy, a cohort study. *Early Hum Dev* 90: 247–52.
- Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühner C (2013) Left Ventricular Longitudinal Strain and Strain Rate Measured by 2-D Speckle Tracking Echocardiography in Neonates During Whole-Body Hypothermia. *Ultrasound Med Biol* 39: 1343–9.
- Hardegree EL, Sachdev A, Fenstad ER, Villarraga HR, Frantz RP, et al. (2013) Impaired Left Ventricular Mechanics in Pulmonary Arterial Hypertension: identification of a Cohort at High Risk. *Circ Heart Fail* 6: 748–55.
- Skinner J (2001) Diagnosis of patent ductus arteriosus. *Semin Neonatol* 6: 49–61.
- Schmitz L, Stiller B, Pees C, Koch H, Xanthopoulos A, et al. (2004) Doppler-derived parameters of diastolic left ventricular function in preterm infants with a birth weight <1500 g: reference values and differences to term infants. *Early Hum Dev* 76: 101–14.
- Schmalisch G, Wilitzki S, Roehr CC, Proquitté H, Bühner C (2012) Development of lung function in very low birth weight infants with or without bronchopulmonary dysplasia: longitudinal assessment during the first 15 months of corrected age. *BMC Pediatr* 12: 37.
- Sehgal A (2011) Haemodynamically unstable preterm infant: an unresolved management conundrum. *Eur J Pediatr* 170: 1237–45.
- Clyman RI, Mauray F, Heymann MA, Roman C (1987) Cardiovascular effects of patent ductus arteriosus in preterm lambs with respiratory distress. *J Pediatr* 111: 579–87.
- Shimada S, Kasai T, Konishi M, Fujiwara T (1994) Effects of patent ductus arteriosus on left ventricular output and organ blood flows in preterm infants with respiratory distress syndrome treated with surfactant. *J Pediatr* 125: 270–7.
- Lindner W, Seidel M, Versmold HT, Döhlemann C, Riegel KP (1990) Stroke volume and left ventricular output in preterm infants with patent ductus arteriosus. *Pediatr Res* 27: 278–81.
- Shimada S, Kasai T, Hoshi A, Murata A, Chida S (2003) Cardiocirculatory effects of patent ductus arteriosus in extremely low-birth-weight infants with respiratory distress syndrome. *Pediatrics International* 45: 255–62.
- Chock VY, Pun R, Oza A, Benitz WE, Van Meurs KP, et al. (2014) Predictors of bronchopulmonary dysplasia or death in premature infants with a patent ductus arteriosus. *Pediatr Res* 75(4): 570–575.
- Greenberg NL, Firstenberg MS, Castro PL, Main M, Travaglini A, et al. (2002) Doppler-derived myocardial systolic strain rate is a strong index of left ventricular contractility. *Circulation* 105: 99–105.
- Weidemann F, Jamal F, Sutherland GR, Claus P, Kowalski M, et al. (2002) Myocardial function defined by strain rate and strain during alterations in inotropic states and heart rate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: 792–9.
- Hammerstingl C, Schueler R, Bors L, Momcilovic D, Pabst S, et al. (2012) Diagnostic value of echocardiography in the diagnosis of pulmonary hypertension. *PLoS One* 7: 38519.
- Fine NM, Chen L, Bastiansen PM, Frantz RP, Pellicka P, et al. (2013) Outcome Prediction by Quantitative Right Ventricular Function Assessment in 575 Subjects Evaluated for Pulmonary Hypertension. *Circ Cardiovasc Imaging* 6: 711–21.
- Fukuda Y, Tanaka H, Sugiyama D, Ryo K, Onishi T, et al. (2011) Utility of right ventricular free wall speckle-tracking strain for evaluation of right ventricular performance in patients with pulmonary hypertension. *J Am Soc Echocardiogr* 24: 1101–8.
- Czernik C, Rhode S, Metzke B, Schmalisch G, Bühner C (2012) Persistently elevated right ventricular index of myocardial performance in preterm infants with incipient bronchopulmonary dysplasia. *PLoS One* 7: 38352.
- Yilmaz R, Gencer M, Ceylan E, Demirbag R (2005) Impact of chronic obstructive pulmonary disease with pulmonary hypertension on both left ventricular systolic and diastolic performance. *J Am Soc Echocardiogr* 18: 873–81.
- Alagappan A, Malloy MH (1998) Systemic hypertension in very low-birth weight infants with bronchopulmonary dysplasia: incidence and risk factors. *Am J Perinatol* 15: 3–8.
- Anderson AH, Warady BA, Daily DK, Johnson JA, Thomas MK (1993) Systemic hypertension in infants with severe bronchopulmonary dysplasia: associated clinical factors. *Am J Perinatol* 10: 190–3.

5 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

6 Komplette Publikationsliste

6.1 Zeitschriftenbeiträge

Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühner C, Schmitz L. Development of left ventricular longitudinal speckle tracking echocardiography in very low birth weight infants with and without bronchopulmonary dysplasia during the neonatal period. *PLoS One*. 2014 Sep 3;9(9):e106504. doi: 10.1371/journal.pone.0106504. eCollection 2014.

Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Tissue Doppler-derived strain and strain rate during the first 28 days of life in very low birth weight infants. *Echocardiography*. 2014 Jul;31(6):765-72. doi: 10.1111/echo.12463. Epub 2013 Dec 23.

Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühner C. Left ventricular longitudinal strain and strain rate measured by 2-D speckle tracking echocardiography in neonates during whole-body hypothermia. *Ultrasound Med Biol*. 2013 Aug;39(8):1343-9. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2013.03.024. Epub 2013 Jun 4.

Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Reproducibility and optimization of analysis parameters of tissue Doppler-derived strain and strain rate measurements for very low birth weight infants. *Echocardiography*. 2013 Nov;30(10):1219-26. doi: 10.1111/echo.12273. Epub 2013 Jun 6.

6.2 Kongressbeiträge

Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühner C, Schmitz L. Evolution of Speckle Tracking Derived 2-D Strain Parameters in Very Low Birth Weight Infants with and Without Bronchopulmonary Dysplasia During the Neonatal Period. *5th Congress of the European Academy of Paediatric Societies*. October 17th - 21st 2014. Posterpräsentation (Czernik).

Helfer S, Schmitz L, Bühner C, Czernik C. Measurement of Tissue-Doppler-Derived Strain and Strain Rate in Very Low Birth Weight Preterm Infants Within the First 28 Days of Life. *5th Congress of the European Academy of Paediatric Societies*. October 17th - 21st 2014. Posterpräsentation (Helfer).

Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühler C, Schmitz L Entwicklung der linksventrikulären 2D Speckle Tracking Parameter bei Frühgeborenen während der Neonatalperiode. *40. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin, Bonn, 26. – 28. Juni 2014.* Vortrag (Czernik)

Czernik C, Rhode S, Helfer S, Schmalisch G, Bühler C. Left Ventricular Longitudinal Strain and Strain Rate Measured by 2D Speckle Tracking Echocardiography in Neonates During whole-Body Hypothermia. *54th Annual Meeting European Society for Paediatric Research. Porto, October 10th - 14th 2013.* Posterpräsentation (Czernik).

Czernik C, Helfer S, Bühler C, Schmitz L. Tissue-Doppler-basierte Strain- und Strain-rate-Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht während der ersten 28 Lebenstage. *39. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin. Freiburg, 6. - 8. Juni 2013.* Vortrag (Czernik).

Helfer S, Schmitz L, Bühler C, Czernik C Reproduzierbarkeit und Optimierung der Analyseparameter der Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-rate-Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht. *39. Jahrestagung der Gesellschaft für Neonatologie und Pädiatrische Intensivmedizin. Freiburg, 6. - 8. Juni 2013.* Vortrag (Helfer).

7 Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater **PD Dr. med. Lothar Schmitz** für die freundliche Überlassung des interessanten Themas. Außerdem möchte ich ihm und **PD Dr. med. Christoph Czernik** für die fürsorgliche Betreuung danken. **Prof. Dr. med. Christoph Bühner** gilt mein Dank für die Unterstützung und fachlichen Ratschläge.

Weiterhin bedanke ich mich bei:

Boris Metze und Dr. med. Gerd Schmalisch Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung

Stefanie Rhode Für die Auswertung und Bereitstellung der konventionellen echokardiografischen Parameter sowie der Speckle-Tracking-Parameter

Petra Blank und dem gesamten Team der Neonatologie CVK Für die organisatorische Hilfe und die netten Gespräche

Sarah Smith-Compton Für die sprachlichen Ratschläge zur Übersetzung

Zuletzt möchte ich mich noch bei meinen Freunden und meiner Familie und ganz besonders bei meiner Verlobten Agnes Waldschütz bedanken, die mich ausgehalten, unterstützt und auch immer wieder auf die anderen wichtigen Dinge im Leben hingewiesen haben.