

Aus der Charité Universitätsmedizin Berlin
CharitéCentrum für Frauen-, Kinder und Jugendmedizin (CC17)
mit Perinatalmedizin und Humangenetik
Klinik für Neonatologie
Direktor: Professor Dr. med. Christoph Bühner

Habilitationsschrift

Kardiovaskuläre Diagnostik und natriuretische Peptide bei sehr kleinen Frühgeborenen < 1500 g Geburtsgewicht

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinderheilkunde
vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Christoph Czernik
geboren am 2. Januar 1964 in Danzig

Eingereicht: November 2013

Dekanin: Professor Dr. med. A. Grüters-Kieslich

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. Eva Robel-Tillig / Klinikum St. Georg Leipzig

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. Ulrich Thome / Universitätsklinikum Leipzig

„Wir stehen immer noch vor der Tür, hinter der die großen Antworten warten“

Arthur Miller

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einleitung	5
1.1. Hämodynamik und Morbiditäten von Frühgeborenen	5
1.2. Natriuretische Peptide	7
1.3. Konventionelle echokardiographische Parameter zur Beurteilung einer Rechtsherzbelastung bei Frühgeborenen	10
1.4. Farbkodierte Gewebe-Doppler-Echokardiographie und 2D-Speckle-Tracking- Echokardiographie in der kardialen Diagnostik von Frühgeborenen	12
1.5. Zielstellung	13
2. Ergebnisse	14
2.1. BNP zur Prädiktion einer Duktusintervention bei Frühgeborenen < 28 SSW	14
2.2. Nachweis von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen während der frühen Neonatalperiode in Abhängigkeit vom Duktusverschluss	20
2.3. Untersuchung von NT-proBNP im Urin zur Prädiktion einer schweren Frühgeborenen-Retinopathie und einer bronchopulmonalen Dysplasie	27
2.4. Erhöhter myokardialer Performance-Index des rechten Ventrikels bei Frühgeborenen mit bronchopulmonaler Dysplasie	33
2.5. Untersuchung zur Reproduzierbarkeit und Optimierung der Analyse- parameter der Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-Rate-Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht	40
2.6. Klinische Relevanz der Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-Rate- 49 Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht während der ersten 28 Lebenstage	
3. Diskussion	58
4. Zusammenfassung	68
5. Literaturverzeichnis	69
Danksagung	82

AT	Akzelerationszeit
ANP	Atrial natriuretic peptide
AUC	Area under the curve
BBV	Beat-to-beat-Variation
BNP	Brain natriuretic peptide
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CNP	C-type natriuretic peptide
cTDI	Farbkodierte Gewebe-Doppler-Echokardiographie
2DSTE	2D-Speckle-Tracking-Echokardiographie
ET	Ejektionszeit
hsPDA	Hämodynamisch signifikanter PDA
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IQR	Interquartile range
IVCT	Isovolumetrische Kontraktionszeit
IVRT	Isovolumetrische Relaxationszeit
NPR	Natriuretic Peptide Receptor
NT-proBNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
PDA	Persistierender Duktus arteriosus
PHT	Pulmonale Hypertonie
PSS	Peak-systolic-Strain
PSSR	Peak-systolic-Strain-Rate
RIMP	Myokardialer Performance-Index des rechten Ventrikels
ROI	Region-of-interest
ROC	Receiver Operator Curve
ROP	Retinopathia praematurorum
S	Strain
SL	Strain-Length
SR	Strain-Rate
TAPSE	Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion
TPV	Time to Peak Velocity
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

1. Einleitung

1.1. Hämodynamik und Morbiditäten von Frühgeborenen

Die Hämodynamik von Frühgeborenen ist ein sehr komplexes Thema, zu dem es weder eindeutige Handlungsleitlinien noch eine einheitliche Datenlage gibt. Bereits bei Geburt sind vor allem Frühgeborene mit einem Geburtsgewicht < 1500 g von ausgeprägten hämodynamischen Schwankungen betroffen, die u. a. auf mangelhafte Anpassungsreaktionen des noch unreifen kardiovaskulären Systems bei der Kreislaufumstellung zurückzuführen sind. So ist die Hypotension bei Frühgeborenen in den ersten 24 Lebensstunden die am häufigsten die Hämodynamik betreffende Diagnose auf neonatologischen Intensivstationen. Dabei reicht der Anteil an wegen Hypotension behandelten Frühgeborenen je nach Einrichtung von 16% bis 98%.¹ Dazu kommen kardiale Belastungen, die durch einen noch erhöhten pulmonalvaskulären Widerstand bei Geburt entstehen und häufig therapeutische Interventionen wie z. B. maschinelle Beatmung, Surfactant- und Sauerstoffgabe sowie kreislaufunterstützende Medikamente notwendig machen.²⁻⁵

Gerade diese intensivmedizinischen Maßnahmen und die Unreife dieser Kinder können Auswirkungen auf die Entwicklung von typischen Morbiditäten von Frühgeborenen haben, was zu erheblichen Folgeschäden in der neurologischen Langzeitentwicklung führen kann.⁶

Zu den typischen Morbiditäten von Frühgeborenen gehören die intraventrikuläre Hirnblutung, der persistierende Duktus arteriosus (PDA), die bronchopulmonale Dysplasie (BPD), die nekrotisierende Enterokolitis, die Retinopathia praematurorum (ROP) und die periventrikuläre Leukomalazie.

Trotz intensivmedizinischer Fortschritte ist die Häufigkeit einer BPD und eines PDA weiterhin sehr hoch, insbesondere bei extrem kleinen Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht kleiner als 1000 g.⁷

Ein PDA ist zwar zunächst eine häufige Nebendiagnose von Frühgeborenen unter der 28. Schwangerschaftswoche. Der verspätete Duktusverschluss verhält sich dabei entgegengesetzt zum Schwangerschaftsalter der Frühgeborenen mit einer Inzidenz von 20% bei Kindern kleiner als 32 Schwangerschaftswochen und bis zu 60% bei Kindern kleiner als 28 Schwangerschaftswochen.^{8,9}

Entwickelt sich in Folge über den PDA ein hämodynamisch signifikanter Links-Rechts-Shunt, so ist dies eine bekannte Ursache für eine erhöhte Morbidität bei sehr kleinen Frühgeborenen. Durch einen PDA kann es zu einer Überflutung der Lunge mit hämorrhagischem Lungenödem kommen und zu einer gesteigerten Volumenbelastung des linken Ventrikels mit konsekutiver kardialer Insuffizienz.¹⁰⁻¹³ Hieraus resultiert meist eine verschlechterte respiratorische Situation für den Patienten mit der Gefahr der Entwicklung einer BPD.^{11,14,15}

Die Beurteilung des PDA und seine klinische Relevanz sind ein sehr komplexes Thema, zu dem es bisher keine eindeutigen Handlungsleitlinien gibt. Sowohl die diagnostischen Kriterien für das Vorhandensein eines PDA als auch die Einschätzung seiner hämodynamischen Signifikanz werden bisher kontrovers diskutiert und gehandhabt.¹⁶⁻¹⁹

Die Behandlung eines hämodynamisch signifikanten (hs) oder symptomatischen PDA hängt vor allem von seiner klinischen Relevanz ab. Dabei stehen für den medikamentösen Verschluss Cyclooxygenase-Inhibitoren wie Indomethacin oder Ibuprofen zur Verfügung. Versagt eine medikamentöse Therapie kann eine operative Duktusligatur notwendig werden. Der optimale Zeitpunkt für eine Duktusintervention ist dabei bis heute unklar.^{12,17,20-25} Neuere Studien zeigen aber, dass ein zu früher operativer Duktusverschluss einen negativen Einfluss auf die neurologische Entwicklung haben kann.²⁶

Ähnlich kompliziert verhält es sich in der kardiovaskulären Beurteilung der BPD.

Die BPD ist eine chronische, potenziell reversible Erkrankung Frühgeborener.²⁷ Die Inzidenz der BPD korreliert eng mit der Unreife der Frühgeborenen. Ca. 15-30% der Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 1000 g oder einer Schwangerschaftsdauer von < 28 Wochen erkranken an einer BPD. Bei Frühgeborenen, die nach 32 Schwangerschaftswochen geboren werden, ist die Erkrankung dagegen eine Rarität.^{7,28,29}

Der pulmonalvaskuläre Widerstand ist in den ersten Lebenstagen bei allen Neugeborenen erhöht und persistiert insbesondere bei Frühgeborenen, die später eine BPD entwickeln. Die Mortalität der BPD wird entscheidend von der Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie (PHT) mit der Gefahr des Rechtsherzversagens mitbestimmt. Neben der O₂-Supplementierung und Diuretikatherapie belegen Daten einen günstigen pulmonal vasodilatativen Effekt für den selektiven Phosphodiesterase-5-Inhibitor Sildenafil.³⁰⁻³²

Eine nichtinvasive Diagnostik zur Früherkennung einer PHT bei Frühgeborenen ist schwierig, da die klassischen echokardiographischen Parameter nicht immer zuverlässig sind.^{33,34}

1.2. Natriuretische Peptide

Seit einigen Jahren haben die natriuretischen Peptide „ANP“ (atrial natriuretic peptide) und „BNP“ (brain natriuretic peptide) einen festen Stellenwert in der Diagnostik einer chronischen Herzinsuffizienz.³⁵⁻⁴⁸ Bereits 1987 konnte erstmalig ein Zusammenhang zwischen den natriuretischen Peptiden und einem offenen Duktus arteriosus gezeigt werden.⁴⁹ In den ersten Lebenstagen wurden bei Frühgeborenen mit einem mittleren Gestationsalter von 26 SSW (range 24-34) und einem klinisch relevanten Duktus arteriosus signifikante Konzentrationserhöhungen von BNP gefunden.^{50,51}

Das natriuretische Peptid BNP wird vorrangig im Ventrikel von den Myozyten produziert und als Vorstufe pro-BNP gelagert. Das BNP-Gen (Nppb) ist wie das ANP-Gen (Nppa) auf Chromosom 1(p36.2) lokalisiert.⁵² Charakteristischerweise weisen BNP, ANP und CNP (C-type natriuretic peptide) strukturelle Gemeinsamkeiten auf. Sie bilden aufgrund einer intramolekularen Disulfidbrücke eine 17 Aminosäuren umfassende Ringstruktur aus, die für die Rezeptorbindung und damit die biologische Wirkung der natriuretischen Peptide essentiell zu sein scheint (Abb.1).⁵³

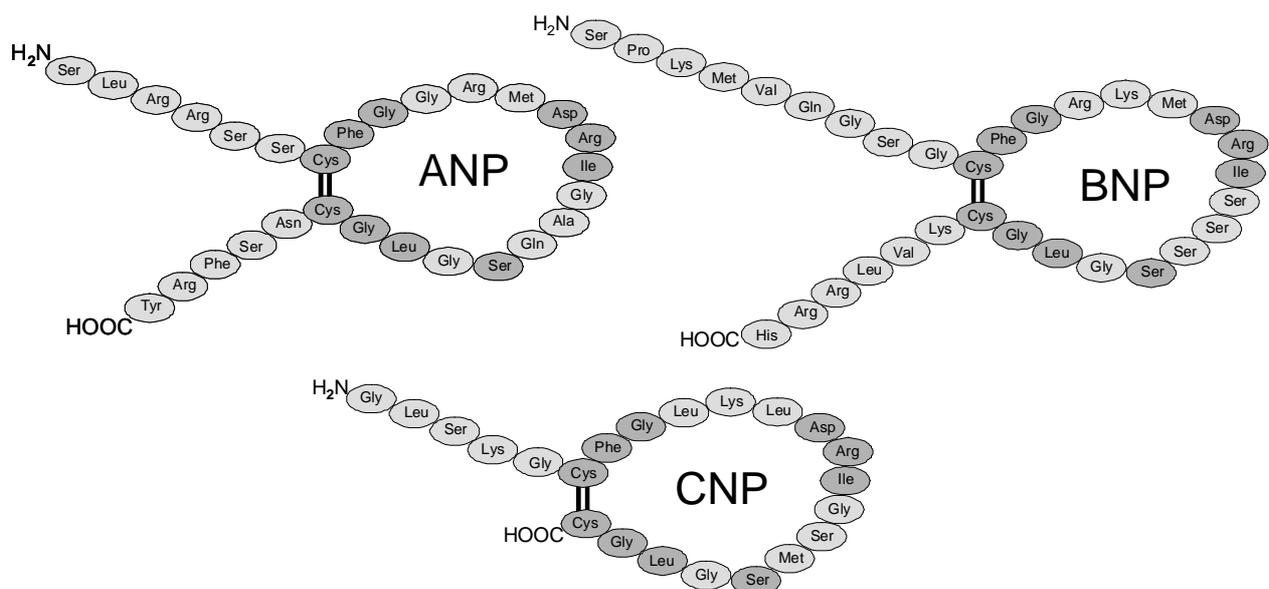


Abbildung 1: Aminosäurestruktur der natriuretischen Peptide ANP, BNP und CNP.

Die Freisetzung erfolgt nach dem derzeitigen Wissensstand am ehesten durch eine erhöhte kardiale Wandspannung. Die Spaltung der Vorläufermoleküle proBNP (108aa) erfolgt in den biologisch aktiven C-terminalen Anteil BNP (77-108aa) und in die biologisch inaktiven Fragmente NT-proBNP (1-76 aa) (Abb. 2).

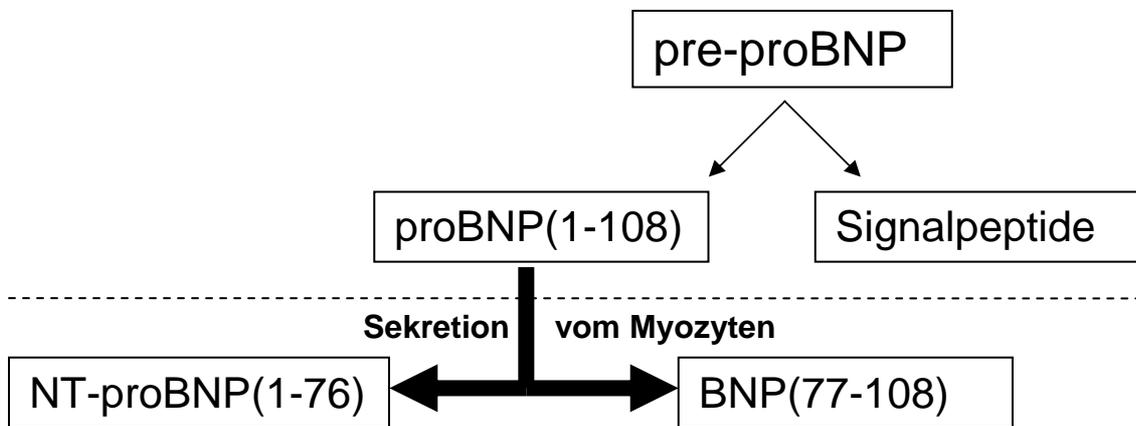


Abbildung 2: Aufspaltung des Vorläuferproteins proBNP in BNP und NT-proBNP.

Die Halbwertszeit der C-terminalen Fragmente (BNP) beträgt nur 20 Minuten. Die biologisch inaktiven N-terminalen Fragmente (NT-proBNP) haben eine längere Halbwertszeit von 120 min, was ihre serologische Nachweisbarkeit erhöht und eine längere Probenstabilität garantiert. Der Clearance-Mechanismus erfolgt für BNP über die Bindung an den NPR-Rezeptor C und enzymatischer Degradation via Neutrale Endopeptidase NEP 24.11, für NT-proBNP dagegen überwiegend renal. Die Wirkung der natriuretischen Peptide wird über spezifische Rezeptoren vermittelt und beinhaltet vor allem eine Antagonisierung vasokonstringierender Komponenten. Diese Natriuretic-Peptide-Rezeptoren (NPR) befinden sich in einer Vielzahl von Organen, unter anderem Niere, Gefäßsystem, Herz, Lunge, Nebennieren, Gehirn, Fettgewebe, Auge, Gastrointestinaltrakt, Knochen, schwangerer Uterus und Plazenta.⁵⁴

Bisher wurden vier Rezeptorsubtypen beschrieben, namentlich NPR-A, -B, -C und -D. Die biologische Aktivität von ANP und BNP wird über den Rezeptor NPR-A vermittelt.^{55,56} Die Bindung von BNP bewirkt über eine intrazelluläre Konformationsänderung die Aktivierung der Guanylatzyklase und dadurch die Umwandlung von Guanosintriphosphat zu zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP). Der second messenger cGMP ist vor allem

für die größte Anzahl der biologischen Aktionen der natriuretischen Peptide verantwortlich.^{57,58}

Im Bereich des Endothelinsystems hemmt BNP die Endothelinfreisetzung, und auch die Aktivität des sympathikoadrenalen Systems scheint durch das natriuretische Peptid moduliert. Zusätzlich wird ein direkter vasodilatierender Effekt, welcher NO-vermittelt ist, beschrieben. Darüber hinaus bewirkt das Neurohormon eine Natriurese und konsekutive Diurese.^{53,59}

CNP wird vornehmlich von Gefäßendothelzellen und einigen Neuronen im ZNS, aber auch lokal in der Niere produziert. CNP reguliert im Unterschied zu ANP und BNP weniger die Natriurese, sondern vorwiegend den Gefäßtonus (Vasodilatation). Es existiert in einer langen (53 Aminosäuren) und einer kurzen (22 Aminosäuren) Form, wobei die physiologisch aktivere kurze Form dem C-terminalen Ende der langen Form entspricht.^{54,56}

2005 konnte die Arbeitsgruppe von Choi et al. erstmalig BNP bei Frühgeborenen mittels eines kommerziell erhältlichen Fluoreszenz Immunoassays (Biosite Triage BNP-Test) bestimmen. Im Plasma von 66 Frühgeborenen (25-34 SSW) mit einem klinisch relevanten Duktus arteriosus wurden signifikante Konzentrationserhöhungen von BNP festgestellt. Es zeigte sich eine statistisch relevante Korrelation zu den echokardiographischen Kriterien wie z. B. LA/AO > 1,4. Es konnte ein „best cut-off“-Wert für BNP von 1110 pg/ml am 3. Lebenstag für die Diagnose eines signifikanten Duktus arteriosus ermittelt werden und eine Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 95% aufgestellt werden.⁶⁰

Weitere Studien bestätigen den Nutzen der natriuretischen Peptide in der Diagnose eines hsPDA.^{50,61,62}

Die Arbeitsgruppe Koch et al. aus Erlangen publizierte im Jahr 2003 BNP-Normwerte für Säuglinge.⁶³ Mit Hilfe des Testverfahrens von Biosite (Triage BNP) zeigten sich bei gesunden reifen Neugeborenen am 1. Lebenstag maximale Konzentrationen von 231 pg/ml. An den Tagen 4, 5 und 6 kam es zu einem Abfall der Konzentrationen auf 48 pg/ml. Bei allen Kindern, die älter als 2 Wochen waren, waren die BNP-Werte kleiner als 32,7 pg/ml.

1.3. Konventionelle echokardiographische Parameter zur Beurteilung einer Rechtsherzbelastung bei Frühgeborenen

Neben der klinischen Beurteilung ist die Echokardiographie von allen nichtinvasiven Methoden die wichtigste Screening-Methode zur Beurteilung einer Rechtsherzbelastung bei Früh- und Reifgeborenen, auch wenn Sensitivität und Spezifität nicht so hoch einzuschätzen sind wie bei älteren Patienten.

Folgende konventionelle echokardiographische Parameter kommen in der Routine zur Anwendung:

- Mit Hilfe der 2-dimensionalen Echokardiographie können Parameter wie rechtsventrikuläre Hypertrophie, Dilatation des rechten Ventrikels, Dilatation der Pulmonalarterie oder ein abgeflachtes Interventrikularseptum erfasst werden.⁶⁴
- Mit der 2-dimensionalen M-Mode-Echokardiographie im apikalen 4-Kammer-Blick lässt sich die TAPSE (Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion) als Parameter der systolischen rechtsventrikulären Funktion bestimmen. Dabei wird die maximale Auslenkung des Trikuspidalanulus in Richtung Apex während der Systole gemessen. Referenzwerte für Kinder, Früh- und Reifgeborene wurden von Koestenberger et al. erstellt.⁶⁵⁻⁶⁷
- Die dopplersonographische Messung des Trikuspidalregurgitations-Jets mit Schätzung des systolischen Druckes in der Pulmonalarterie ist eine sehr häufig angewandte Methode für die Diagnose einer pulmonalen Hypertonie, wobei die akkurate Druckbestimmung nur in 30% bis 73% der Fälle zutrifft.^{68,69}
- Der pulmonalarterielle Druck lässt sich auch durch die Messung systolischer und diastolischer Zeitintervalle mit Hilfe des gepulsten Dopplers abschätzen. Bei ansteigendem pulmonalvaskulärem Widerstand und somit wachsendem pulmonalarteriellem Druck weisen die systolischen Zeitintervalle des Flussprofils im rechtsventrikulären Ausflusstrakt zunehmende Verkürzungen auf. Die Zeit vom Beginn des Anstiegs bis zum Erreichen des Maximums, die Akzelerationszeit (AT, auch TPV, Time to Peak Velocity), ist genau wie die Ejektionszeit (ET), welche der Zeit vom Beginn bis zum Ende der Strömung entspricht, verkürzt.^{70,71}
- Ein sehr vielversprechender Parameter zur Einschätzung der globalen rechtsventrikulären Funktion stellt der myokardiale Performance-Index des rechten Ventrikels (RIMP) dar. Die Messung des RIMP dient zur Einschätzung der

globalen Funktion des rechten Ventrikels. Der RIMP setzt sich aus folgender Formel zusammen: $(a-b)/b$, was $(IVCT + IVRT)/ET$ entspricht. IVCT beschreibt die isovolumetrische Kontraktionszeit; IVRT die isovolumetrische Relaxationszeit und ET die rechtsventrikuläre Ejektionszeit. Im apikalen 4-Kammer-Blick wird mittels gepulstem Doppler die Zeit des Intervalls „a“ zwischen Trikuspidalklappenschluss und -öffnung gemessen. In der parasternalen kurzen Achse lässt sich mittels gepulstem Doppler-Signal über der Pulmonalklappe das Intervall „b“ der Ausflusszeit des rechten Ventrikels messen (Abb. 3).⁷²

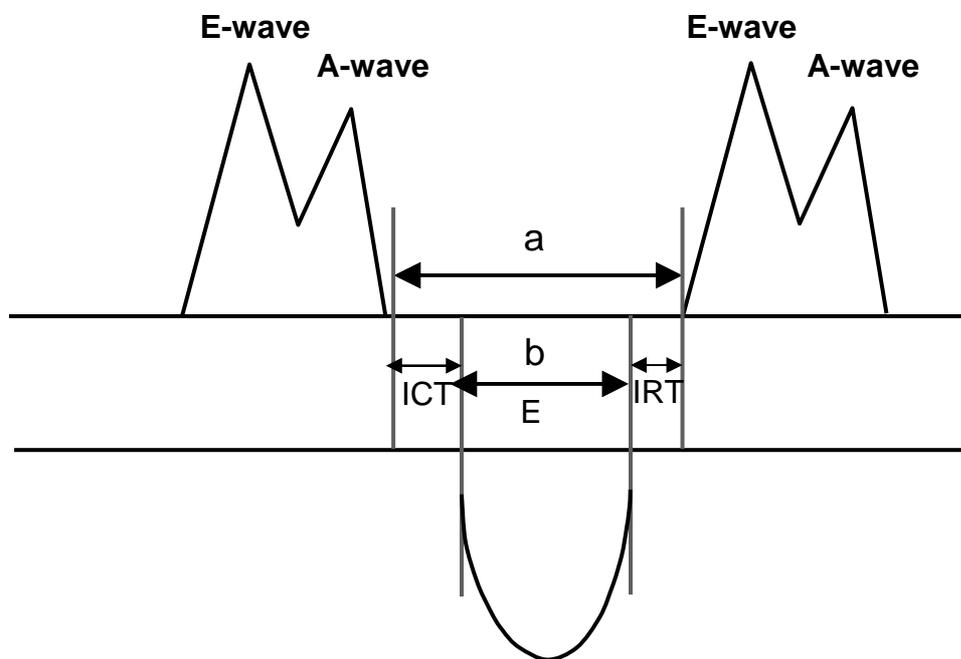


Abbildung 3: Zeitintervalle der Flussprofile im rechtsventrikulären Ein- und Ausflusstrakt. **a** = Intervall zwischen Trikuspidalklappenschluss und -öffnung; **b** = Intervall der Ausflusszeit des rechten Ventrikels

1.4. Farbkodierte Gewebe-Doppler-Echokardiographie und 2D-Speckle-Tracking-Echokardiographie in der kardialen Diagnostik von Frühgeborenen

Mit Hilfe der farbkodierten Gewebe-Doppler-Echokardiographie (cTDI) und 2D-Speckle-Tracking-Echokardiographie (2DSTE) stehen neue echokardiographische Techniken zur Verfügung, mit denen regionale radiale, zirkumferentielle und longitudinale myokardiale Geschwindigkeiten, Strain und Strain-Rate gemessen werden können. Strain (Deformation) steht dabei für eine Veränderung der Myokardlänge in Bezug zur Ausgangslänge. Die „Strain-Rate“ ist die zeitliche Veränderung dieser Myokarddeformierung und wird in der Einheit 1/s gemessen.⁷³ Beide Techniken haben sich bereits in mehreren Studien bei Erwachsenen und Kindern in der kardialen Funktionsdiagnostik bewährt.⁷⁴⁻⁸³

Es konnte sogar gezeigt werden, dass die neuen Parameter sensitiver auf myokardiale Veränderungen ansprechen als bisherige konventionelle echokardiographische Parameter.⁸⁴⁻⁸⁶

Naderi et al. konnte kürzlich mittels cTDI zeigen, dass die Strain und die Strain-Rate der rechten freien Herzwand gut mit dem pulmonalen Gefäßwiderstand der Patienten mit PHT korrelieren.⁸⁷ Hardegree et al. fand sogar heraus, dass die Strain-Messungen mittels 2DSTE prädiktiv für die Mortalität von Patienten mit PHT sind.⁸⁸

Dagegen gibt es bisher nur wenige Studien, in denen diese neuen echokardiographischen Parameter bei Neugeborenen bzw. Frühgeborenen untersucht wurden.^{89,90}

Nestass et al. fand in seiner Studie heraus, dass Strain und Strain-Rate bei asphyktischen Neugeborenen sensitiver waren als die klassische fractional shortening des linken Ventrikel.⁹¹

Da die bisherigen konventionellen echokardiographischen Parameter nicht immer zufriedenstellend die kardialen Belastungen der Frühgeborenen bei BPD und hsPDA widerspiegeln, erschien es uns vielversprechend, diese neuen sensitiven kardialen Funktionsparameter bei Frühgeborenen < 1500 g Geburtsgewicht zu untersuchen.

1.5. Zielstellung

Das Ziel dieser Arbeit besteht in der Evaluation neuer nichtinvasiver Methoden zur Beurteilung der kardialen Dysfunktion bei Frühgeborenen kleiner 1500 g Geburtsgewicht. Insbesondere die natriuretischen Peptide BNP und NT-proBNP, der myokardiale Performance-Index und die farbkodierte Gewebe-Doppler-Echokardiographie wurden in der Arbeit untersucht.

Folgende Fragestellungen wurden aufgestellt:

- 1) Lässt sich bei Frühgeborenen < 28 SSW mit einem hämodynamisch relevanten Duktus arteriosus ein Grenzwert für das natriuretische Peptid BNP bestimmen, der eine später notwendige Duktusintervention vorhersagen kann?
- 2) Korrelieren die BNP-Konzentrationen mit den klassischen echokardiographischen Kriterien LA/Ao-Ratio und Duktusdurchmesser?
- 3) Ist das natriuretische Peptid NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen während der Neonatalperiode nachweisbar und ist der Biomarker geeignet für ein Therapiemonitoring bei einem hämodynamisch signifikanten Duktus arteriosus?
- 4) Ist das natriuretische Peptid NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen zur Prädiktion von Morbiditäten wie der Frühgeborenen-Retinopathie und BPD geeignet?
- 5) Kann man anhand des myokardialen Performance-Index des rechten Ventrikels den pulmonalvaskulären Widerstand bei Frühgeborenen mit und ohne Entwicklung einer BPD einschätzen?
- 6) Welchen Einfluss haben die Größen „Region-of-interest“ (ROI) und „Strain-Length“ (SL) auf die Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit der Strain- und Strain-Rate-Bestimmung mittels farbkodierter Gewebe-Doppler-Echokardiographie bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g?
- 7) Lässt sich die Entwicklung der Herzfunktion von Frühgeborenen mit Hilfe der Tissue-Doppler-basierten Peak-systolic-Strain (PSS) und Strain-Rate (PSSR) in den ersten 28 Lebenstagen untersuchen?

2. Ergebnisse

2.1. BNP zur Prädiktion einer Duktusintervention bei Frühgeborenen < 28 SSW

Originalarbeit:

B-type natriuretic peptide to predict ductus intervention in infants < 28 weeks.

Czernik C, Lemmer J, Metze B, Koehne PS, Mueller C, Obladen M.

Pediatr Res. 64(3) 2008: 286-90.

<http://dx.doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181799594>.

In einer prospektiven, geblindeten Studie untersuchten wir bei 67 Frühgeborenen < 28 SSW (median 26 (25-27) SSW) im Alter von 24-48 h Plasma-BNP-Konzentrationen mit einem Chemilumineszens-Immunoassay-Testverfahren (Siemens/Bayer-Diagnostik). Basierend auf spezifischen klinischen Zeichen und echokardiographischen Kriterien erfolgte die Indikation zur Duktusintervention (medikamentöse Therapie und/oder chirurgische Ligatur). 24 Patienten (Interventionsgruppe) erhielten eine Duktusintervention und 43 Patienten blieben ohne Duktustherapie. Die BNP-Konzentrationen waren in der Interventionsgruppe höher (median 1069 (564-1845) pg/ml) als in der Kontrollgruppe (247 (121-463) pg/ml), ($p < 0,001$). Positive Korrelationen fanden wir zwischen BNP und Duktusdurchmesser ($R = 0,46$, $p < 0,001$) sowie BNP und LA/Ao-Ratio ($R = 0,54$, $p < 0,001$). Das Neurohormon BNP erwies sich als ein guter Indikator für eine Duktusintervention (AUC: 0,86) mit einem optimalen Cut-Off von 550 pg/ml (Sensitivität: 83%; Spezifität: 86%; positiver Vorhersagewert: 77%; negativer Vorhersagewert: 90%). Die Ergebnisse zeigen, dass die Bestimmung der Plasma-BNP-Konzentration bei beatmeten Frühgeborenen < 28 SSW im Alter von 24-48h nützlich ist, um eine später notwendige Duktusintervention vorherzusagen.

2.2. Nachweis von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen während der frühen Neonatalperiode in Abhängigkeit vom Duktusverschluss

Originalarbeit:

Urinary NT-proBNP and ductal closure in preterm infants.

Czernik C, Metze B, Müller C, Bühler C. J Perinatol. 33(3) 2013: 212-7.
<http://dx.doi.org/10.1038/jp.2012.86>.

Wir untersuchten in einer prospektiven Studie die Nachweisbarkeit von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen und die Korrelation mit einer Duktustherapie. Eingeschlossen wurden 136 Frühgeborene (median (IQR) Gestationsalter 28 (26-30) SSW; Geburtsgewicht 1030 (780-1270) g). NT-proBNP wurde an den Lebenstagen 2, 7, 14 und 28 bestimmt. NT-proBNP konnte im Urin der Frühgeborenen während der Neonatalperiode nachgewiesen werden. Es zeigte sich ein kontinuierlicher Abfall der NT-proBNP/Kreatinin-Ratio im Urin zwischen Lebenstag 2 (74 (17-248) µg/g) und Lebenstag 28 (4 (2-12) µg/g). Die Werte waren für beatmete Kinder an den Lebenstagen 2, 7 und 14 signifikant erhöht, für Kinder mit einem hämodynamisch signifikanten Duktus arteriosus am Lebenstag 2. Die NT-proBNP/Kreatinin-Ratio war am 14. Lebenstag bei 14 Frühgeborenen signifikant erhöht, bei denen die medikamentöse Duktustherapie nicht erfolgreich und eine operative Duktustherapie notwendig war (247 (214-547) µg/g vs. 55 (21-114) µg/g; $p < 0,05$). Ein Cut-Off von 210 µg/g am Lebenstag 14 hatte eine Sensitivität von 75% und eine Spezifität von 100% für die Prädiktion einer nicht erfolgreichen medikamentösen Duktustherapie. Wir kamen zu der Schlussfolgerung, dass NT-proBNP auch im Urin von Frühgeborenen nachweisbar ist und dass diese nichtinvasive Methode hilfreich im Therapiemonitoring einer Duktustherapie sein kann.

2.3. Untersuchung von NT-proBNP im Urin zur Prädiktion einer schweren Frühgeborenen-Retinopathie und einer bronchopulmonalen Dysplasie

Originalarbeit:

Urinary N-terminal B-type natriuretic peptide predicts severe retinopathy of prematurity. **Czernik C**, Metze B, Müller C, Müller B, Bühner C. Pediatrics. 128(3) 2011: e545-9. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2011-0603>.

Das Ziel dieser Studie war, die Bestimmung von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen zu evaluieren und den Bezug auf die Prädiktion von Morbiditäten wie der Frühgeborenen-Retinopathie und BPD zu überprüfen. In einer prospektiven, geblindeten Studie wurden bei 136 Frühgeborenen < 1500 g Geburtsgewicht im Alter von 2, 7, 14 und 28 Tagen NT-proBNP-Konzentrationen im Urin mit einem Chemilumineszens-Immunoassay-Verfahren (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) gemessen. In der Studienpopulation entwickelten 22 Frühgeborene eine BPD (erhöhter Sauerstoffbedarf mit 36 Schwangerschaftswochen) und 11 Frühgeborene eine schwere Retinopathie (ROP) (Stadium 3 oder Stadium 2+, interventionspflichtig). Die NT-proBNP-Konzentration (UNBCR), normiert auf Kreatinin, war bei Frühgeborenen mit einer BPD oder einer schweren ROP im Vergleich mit der Kontrollgruppe erhöht ($P \leq 0,001$). In der multiplen Regressionsanalyse mit den Parametern Geburtsgewicht und Gestationsalter, ROP und BPD, zeigte nur die ROP einen signifikanten Zusammenhang mit UNBCR im Alter von 14 und 28 Tagen. UNBCR erwies sich im Alter von 14 (AUC: 0,938 ($\pm 0,027$)) und 28 (AUC: 0,954 ($\pm 0,021$)) Tagen als ein guter prädiktiver Marker für die Entwicklung einer schweren ROP. Die UNBCR-Cut-Off-Werte im Alter von 14 und 28 Tagen, mit einer Sensitivität von 100% und einem negativen Vorhersagewert von 100%, zeigten eine Spezifität von 66% und 85%. UNBCR erwies sich als ein akkurater prädiktiver Marker für die Identifikation von Frühgeborenen mit einem hohen Risiko für eine schwere Retinopathie. Somit könnte die Bestimmung von UNBCR zur Reduktion von unnötigen augenärztlichen Untersuchungen bei Frühgeborenen führen.

2.4. Erhöhter myokardialer Performance-Index des rechten Ventrikels bei Frühgeborenen mit bronchopulmonaler Dysplasie

Originalarbeit:

Persistently elevated right ventricular index of myocardial performance in preterm infants with incipient bronchopulmonary dysplasia.

Czernik C, Rhode S, Metze B, Schmalisch G, Bühner C. PLoS One. 7(6) 2012: e38352. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0038352>.

Ziel der Untersuchung war, anhand des myokardialen Performance-Index des rechten Ventrikels (RIMP) den pulmonalvaskulären Widerstand bei Frühgeborenen mit und ohne Entwicklung einer BPD zu vergleichen. Dafür wurden 121 Frühgeborene < 32 SSW im Alter von 2, 7, 14 und 28 Lebenstagen Dopplerechokardiographisch in einer prospektiven Studie untersucht. Der myokardiale Performance-Index des rechten Ventrikels war unabhängig von Herzfrequenz, Blutdruck, mechanischer Beatmung und persistierendem Duktus arteriosus. Am 2. Lebenstag war RIMP bei allen Frühgeborenen mit und ohne Entwicklung einer BPD gleichermaßen erhöht (median 0,39 [0,33-0,55] vs. 0,39 [0,28-0,51], $p=0,467$).

Ein stetiger Abfall der RIMP-Werte konnte bei allen Frühgeborenen ohne BPD beobachtet werden, aber nicht bei den Frühgeborenen mit Entwicklung einer BPD (Lebenstag 7: 0,31 [0,22-0,39] vs. 0,35 [0,29-0,48], $p=0,014$; Lebenstag 14: 0,23 [0,17-0,30] vs. 0,35 [0,25-0,43], $p<0,001$; Lebenstag 28: 0,21[0,15-0,28] vs. 0,31[0,21-0,35], $p=0,015$).

Somit konnten wir zeigen, dass bei Frühgeborenen mit einer BPD kein Abfall des RIMP zu beobachten war, und daraus schließen, dass für diese Patienten ein erhöhter pulmonalvaskulärer Widerstand vorliegt.

2.5. Untersuchung zur Reproduzierbarkeit und Optimierung der Analyseparameter der Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-Rate-Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht

Originalarbeit:

Reproducibility and Optimization of Analysis Parameters of Tissue Doppler-Derived Strain and Strain Rate Measurements for Very Low Birth Weight Infants. Helfer S, Schmitz L, Bühner C, **Czernik C**. Echocardiography 2013 Nov;30(10):1219-26. <http://dx.doi.org/10.1111/echo.12273>.

Mit dieser Studie untersuchten wir den Einfluss der Parameter „Region of interest“ (ROI-Größe) und der Strain-Length (SL) auf die Reproduzierbarkeit der Tissue-Doppler-basierten Strain(S)- und Strain-Rate(SR)-Messungen bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g. Dafür bestimmten wir die Beat-to-beat-Variation (BBV) für die S- und SR-Kurven bei unterschiedlichen Kombinationen von ROI-Breite (RW), ROI-Länge (RL) und SL anhand von je 20 qualitativ hochwertigen Tissue-Doppler-Aufnahmen in drei Herzwänden. Wir untersuchten den Einfluss von RW, RL und SL auf die BBV und bestimmten Inter- und Intra-Operator-Variabilität. Es zeigte sich, dass die geringste BBV für eine RW von 2 mm vorlag. Eine Erhöhung der SL (auch auf Kosten der RL) führte zu einem Absinken der BBV. Mehrere Kombinationen führten zu niedrigeren BBV, ohne sich untereinander signifikant darin zu unterscheiden. Die Variationskoeffizienten für die Intra- und Inter-operator-Variabilität lagen zwischen 15,1% und 65,2%. Beide waren für systolische Werte niedriger als für diastolische Werte.

Wir konnten damit die technische Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit der S- und SR-Bestimmung bei einer kleinen ausgewählten Gruppe unserer Grundpopulation zeigen. Die Reproduzierbarkeit ist vergleichbar mit ähnlichen Studien. Die Durchführbarkeit und klinische Aussagekraft in einer größeren unselektierten Population bleibt noch zu bestimmen.

Unsere Studie ergab, dass S- und SR-Messungen mittels Tissue-Doppler bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht unter 1500 g technisch möglich und in Grenzen reproduzierbar sind. ROI-Größe und SL haben einen signifikanten Einfluss auf diese Werte. Das RW-Optimum liegt bei ca. 2 mm, die SL sollte groß und die RL klein gehalten werden.

2.6. Klinische Relevanz der Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-Rate-Messung bei Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht während der ersten 28 Lebenstage

Originalarbeit:

Tissue-Doppler-derived strain and strain rate during the first 28 days of life in very low birth weight infants.

Helfer S, Schmitz L, Bühner C, **Czernik C**. Echocardiography 2013 Dec 23.

<http://dx.doi.org/10.1111/echo.12463>.

Anhand der zuvor evaluierten Messtechnik für die Tissue-Doppler-basierten Peak-systolic-Strain (PSS) und Strain-Rate (PSSR) untersuchten wir die Entwicklung der Herzfunktion von Frühgeborenen in den ersten 28 Lebenstagen in Abhängigkeit vom klinischen Verlauf der Kinder. Wir bestimmten PSS und PSSR in der rechten und linken Herzwand sowie im Septum an den Lebenstagen (LT) 1, 7, 14 und 28 bei 121 Frühgeborenen unter 1500 g Geburtsgewicht. Körpergewicht, Herzfrequenz sowie das Vorliegen eines hsPDA und die Entwicklung einer BPD wurden dokumentiert. PSS und PSSR des rechten Ventrikels nahmen während der ersten 28 Lebenstage signifikant zu. Frühgeborene, die eine BPD entwickelten, hatten an LT 14 und 28 einen signifikant niedrigeren PSS im rechten Ventrikel, während ein hsPDA an LT 14 zu einem signifikant niedrigeren PSS im linken Ventrikel führte. Aufgrund der hohen Korrelation der Krankheitsbilder und der klinischen Parameter war eine exakte kausale Zuteilung ihres Einflusses auf PSS oder PSSR nicht immer möglich. BPD und PDA haben aber offensichtlich einen signifikanten Einfluss auf PSS. PSS scheint bei FG zur Erfassung eines erhöhten Afterloads (erniedrigter PSS im rechten Ventrikel bei Kindern mit BPD) und eines erhöhten Preloads (erniedrigter PSS im linken Ventrikel bei Kindern mit PDA) herangezogen werden zu können. Die klinischen Vorteile sowie die klinische Anwendbarkeit der Methode müssen noch weiter untersucht werden.

3. Diskussion

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit neueren nichtinvasiven diagnostischen Methoden bei Frühgeborenen < 1500 g Geburtsgewicht, die ein hohes Risiko haben, Unreife-assoziierte Morbiditäten zu entwickeln. Neben den hämodynamischen Besonderheiten von Früh- und Reifgeborenen stehen in der Arbeit kardiovaskuläre Erkrankungen im Vordergrund, die kardiale Belastungen verursachen können. Einerseits umfassen die diagnostischen Methoden Laborparameter (BNP und NT-proBNP), die bereits seit einigen Jahren einen festen Stellenwert in der Prognose der Herzinsuffizienz besitzen und gut mit der hämodynamischen Signifikanz eines PDA bei Frühgeborenen korrelieren, andererseits werden sowohl konventionelle als auch neuere echokardiographische Verfahren in ihrer Durchführbarkeit, Reproduzierbarkeit und klinischen Relevanz untersucht.

Insgesamt konnten wir in unseren Studien zeigen, dass das natriuretische Peptid BNP und sein inaktives Fragment NT-proBNP zu analysieren waren und die konventionellen und neuen echokardiographischen Verfahren auch bei den sehr kleinen Patienten durchführbar waren. Ebenso fanden wir eine signifikante klinische Relevanz zu den Morbiditäten hsPDA, BPD und therapiebedürftigen ROP, so dass diese Methoden nicht nur in der Diagnostik, sondern auch im Therapiemonitoring von Nutzen sein können.

In der Studie zur Prädiktion einer später notwendigen Duktusintervention konnte gezeigt werden, dass hohe BNP-Konzentrationen im Plasma am 2. Lebenstag mit einer Duktusintervention assoziiert waren. In dieser Studie untersuchten wir Frühgeborene < 28 SSW, da gerade bei diesen Kinder sehr häufig eine medikamentöse oder chirurgische Duktusintervention notwendig ist.⁹² Die Studie fokussiert sich auf den frühen Zeitpunkt einer Duktusdiagnostik, da die klinischen Zeichen und echokardiographischen Kriterien wie z. B. die LA/Ao-Ratio und der Duktusdurchmesser zwar die hämodynamische Relevanz eines PDA in den ersten Lebenstagen definieren können, aber nicht die Notwendigkeit einer medikamentösen Duktustherapie oder einer chirurgischen Duktusligatur vorherbestimmen.⁹²⁻⁹⁴ Im Vergleich zu früheren Studien, die erhöhte BNP-Konzentrationen bei hsPDA zum späteren Zeitpunkt fanden,^{60,62,95} konnten wir bereits im Alter von 24-48 h erhöhte Konzentrationen von BNP nachweisen. Wir konnten einen Cut-Off für BNP-Konzentrationen > 550 pg/ml definieren mit einer hohen Sensitivität und

Spezifität für eine später notwendige Duktusintervention. Einflussfaktoren wie Infektionen, Volumentherapie und inotrope Medikamente auf das zirkulierende BNP wurden in der Studie nicht berücksichtigt, da alle Kinder nach dem gleichen klinischen Standard therapiert wurden.⁹⁶ Nach erfolgreichem Duktusverschluss konnten wir ein Absinken der BNP-Konzentration beobachten. Die Halbwertszeit (HWZ) von BNP beträgt zwar nur 20 min und ist im Vergleich zum biologisch inaktiven Fragment NT-proBNP (HWZ 120min) deutlich kürzer, aber ein wesentlicher Vorteil ist sicherlich der schmale Normwertbereich von BNP und die NPR-C rezeptorgebundene, enzymatisch vermittelte Clearance über die neutrale Endopeptidase 24.11, die nicht nierenfunktionsabhängig sein soll.^{47,54,63,97} Die klassischen echokardiographischen Parameter LA/Ao-Ratio und Duktusdurchmesser korrelierten gut mit der BNP-Konzentration, so dass BNP in Verbindung mit der Echokardiographie auch im Therapiemonitoring ein hilfreicher Laborparameter sein kann. Die Echokardiographie wird jedoch als Goldstandard für die Diagnose eines PDA unverzichtbar bleiben, auch wenn sie nicht immer auf allen neonatologischen Intensivstationen sofort verfügbar ist.^{98,99}

Da es weiterhin unklar bleibt, ob überhaupt und wann ein PDA konservativ, pharmakologisch oder chirurgisch behandelt werden sollte,^{17,21-25} können das natriuretische Peptid BNP und seine biologisch inaktive Form NT-proBNP zur klinischen und echokardiographischen Entscheidung herangezogen werden. Darüber hinaus zeigen neuere Studien, dass die natriuretischen Peptide auch im Therapiemonitoring nützlich sein können.¹⁰⁰⁻¹⁰⁴ Die Konzentrationen der natriuretischen Peptide wurden in den Studien hauptsächlich im Plasma gemessen.

Um Frühgeborenen serielle Blutentnahmen zu ersparen, wurde in unserer Klinik zunächst untersucht, inwieweit NTproBNP auch im Urin nachweisbar ist, wie in einigen Studien bei Erwachsenen bereits gezeigt wurde.^{105,106} Dabei erwies sich, dass NTproBNP mit routinemäßig eingesetzten Verfahren in gleicher Weise in Blut und in Urin gemessen werden kann, ohne dass eine Modifikation der Messtechnik erforderlich war. Eine präanalytische Prozessierung des Urins entfällt. Die Stabilität der NTproBNP-Konzentration im Urin ist über mindestens 24 h gewährleistet.

Viele Blutentnahmen können bei sehr kleinen Frühgeborenen, die nur ein Gesamtblutvolumen von ca. 80 ml/kg aufweisen, frühzeitig eine Transfusion indizieren. Daher sollte bei Frühgeborenen jede einzelne Blutentnahme berücksichtigt werden.

Unsere Studie konnte den Nachweis von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen bestätigen. Um den Einfluss der Nierenfunktion zu minimieren, wurde die NT-proBNP-

Konzentration auf Kreatinin normiert. Neben dem erwarteten Verlauf mit hohem Anstieg der NT-proBNP-Konzentration bereits am 2. Lebenstag und kontinuierlichem Absinken bis Lebenstag 28 konnte gezeigt werden, dass beatmete Patienten mit hsPDA signifikant höhere NT-proBNP-Konzentrationen im Urin am Lebenstag 2 und 14 aufwiesen. Wir konnten sogar einen Cut-Off von 210 µg/g am Lebenstag 14 mit einer Sensitivität von 75% und einer Spezifität von 100% für die Prädiktion einer nicht erfolgreichen medikamentösen Duktustherapie berechnen. Frühere Studien konnten bereits NT-proBNP im Urin von Erwachsenen mit Herzinsuffizienz nachweisen und die Ergebnisse als hilfreich in der Diagnose und Prognose einer Herzinsuffizienz interpretieren. Dabei ergaben parallele NT-proBNP-Messungen in Plasma und Urin gute Übereinstimmungen.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Die Clearance-Mechanismen von NT-proBNP und BNP sind bis heute nicht gut verstanden. Nach aktuellem Wissensstand wird das inaktive Fragment NT-proBNP überwiegend renal eliminiert.¹⁰⁸ Diese Fakten sowie die längere biologische Stabilität von NT-proBNP haben uns dazu bewogen, NT-proBNP und nicht BNP im Urin zu untersuchen. Unsere Ergebnisse sind vergleichbar mit den Studiendaten, die die plasmatische NT-proBNP-Konzentration bei Frühgeborenen mit hsPDA untersucht haben.^{100-102,104}

Da es zurzeit über die Auswirkung eines hsPDA – und dessen Behandlung – auf die Entwicklung einer BPD und die neurologische Entwicklung eines Frühgeborenen nur wenige Daten gibt, erscheint uns ein Monitoring mit BNP oder NT-proBNP für die Entscheidung eines operativen Duktusverschlusses hilfreich zu sein. Zumal in der Studie von Clyman et al. gezeigt wurde, dass durch eine prophylaktische Duktusligatur in den ersten 24 Lebensstunden die Inzidenz einer BPD gesteigert werden kann.¹⁰⁹ Ebenso beschreibt Wickremasinghe et al. ein schlechteres neurologisches Outcome für die Kinder, die direkt im Anschluss an eine nicht erfolgreiche medikamentöse Therapie eine frühe Duktusligatur erhalten haben.²⁶

Im Vergleich zu den mittlerweile reichlich vorhandenen Studien bzgl. natriuretischer Peptide und kardialer Insuffizienz gibt es nur wenige Studien, die den Zusammenhang der Peptide mit pulmonalen und gefäßproliferativen retinalen Erkrankungen untersucht haben.¹¹⁰⁻¹¹³

Wir konnten in unserer Studie zur Evaluation von NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen nicht nur den Bezug zum hsPDA zeigen, sondern auch die Korrelation zur BPD und therapiebedürftigen ROP herstellen. Beeindruckend waren die Ergebnisse zur Prädiktion einer schweren Retinopathie. Unter Anwendung ROC-optimierter Cut-

Offs im Alter von 14 und 28 Tagen, mit einer Sensitivität von 100% und einem negativen Vorhersagewert von 100%, zeigte sich eine Spezifität von 66% und 85%. Die Assoziation zwischen schwerer ROP und der NT-proBNP-Konzentration am Lebenstag 14 und 28 war unabhängig vom Gestationsalter und Geburtsgewicht. Somit konnten alle Kinder ohne eine therapiebedürftige Retinopathie identifiziert werden.

Die Ergebnisse für NT-proBNP im Urin von Frühgeborenen und der Entwicklung einer BPD waren ebenfalls statistisch signifikant, aber nicht ganz so prädiktiv. Ähnliche Resultate zeigten sich bei erwachsenen Patienten mit PHT, wo die NT-proBNP-Konzentration kompensatorisch erhöht war als vasodilatierender Gegenspieler zu den vasokonstriktorisch wirkenden Mediatoren Thromboxan und Endothelin-1.¹¹⁴⁻¹¹⁷ Aktuelle Studien befassen sich neuerdings mit der Fragestellung, ob die NT-proBNP-Messung hilfreich bei der Beatmungsentwöhnung sein kann.¹¹⁸

Die BPD und die ROP gehören zu den typischen Erkrankungen von Frühgeborenen und sind u. a. assoziiert mit niedrigem Geburtsgewicht, Unreife und exzessiver Sauerstoffgabe. Bei beiden Erkrankungen spielt pathogenetisch die unterbrochene Angiogenese eine entscheidende Rolle.¹¹⁹⁻¹²¹

Die ROP ist eine vasoproliferative Netzhauterkrankung des Frühgeborenen. Als Ursache liegt eine Störung der retinalen Gefäßneubildung zugrunde, durch die es zu einer unvollständigen Netzhautvaskularisation kommt. Im weiteren Verlauf ereignet sich eine überschießende Kapillarproliferation an der Vaskularisationsgrenze.¹²² Betroffen sind fast ausschließlich sehr unreife Kinder unter 31 Wochen Gestationsalter.^{123,124} Die Pathogenese der ROP verläuft in zwei Phasen. In der ersten, vasoobliterativen Phase der ROP kommt es durch eine für das Frühgeborene unphysiologisch hohe Sauerstoffkonzentration des extrauterinen Milieus und zusätzlich häufig notwendige therapeutische Sauerstoffgaben zu einer verminderten Expression des sauerstoffabhängigen Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF). Dieser steuert das Gefäßwachstum und ist für das Überleben der Endothelzellen vonnöten. Durch den Verlust physiologischer VEGF-Konzentrationen kommt es zum Abbruch weiteren Gefäßwachstums sowie Verlust bereits gebildeter Gefäße. Durch den erhöhten Sauerstoffpartialdruck entstehen vermehrt Sauerstoffradikale, die sich wiederum negativ auf das Überleben und die Migrationsfähigkeit der Endothelvorläuferzellen auswirken. Eine sehr bedeutende Rolle in der ersten Phase spielt auch der sauerstoffunabhängige Insulin-like growth factor 1 (IGF-1). Dieser ist notwendig für eine maximale VEGF-Stimulation zum Gefäßwachstum und zur Neovaskularisierung.¹²⁵ Intrauterin steigt seine

Konzentration vor allem im dritten Trimenon und wird durch die Plazenta und das Fruchtwasser zugeführt. Postnatal wird IGF-1 nach Stimulation durch Wachstumshormone in der Leber gebildet. Durch Verlust von Plazenta und Fruchtwasser sowie eine noch unreife Leber haben Frühgeborene besonders niedrige IGF-1-Konzentrationen. Dies führt ebenfalls zu reduziertem Gefäßwachstum, auch bei vorhandenem VEGF. Die Unreife des Frühgeborenen und der damit assoziierte Stand in der vaskulären Entwicklung, die IGF-1-Konzentration, welche die Wirksamkeit des VEGF beeinflusst, und der VEGF selbst bestimmen die Voraussetzungen für die zweite Phase der ROP, die Neovaskularisierung. In dieser Phase kommt es durch den in der ersten Phase entstandenen Gefäßverlust bedingten Sauerstoffmangel in der Retina zur Hochregulation von VEGF. Kommt es dann mit etwa 34 Wochen Gestationsalter durch die fortgeschrittenere Organreife zum Überschreiten einer kritischen Schwelle der IGF-1-Konzentration, so bilden sich neue Gefäße an der Grenze zwischen vaskularisierter und avaskulärer Netzhaut. Sinken die VEGF-Konzentrationen wieder, ist eine normale retinale Gefäßentwicklung möglich. Bleibt VEGF unnatürlich erhöht, führt dies zu einer pathologischen Neovaskularisierung mit Gefäßeinsprossung in den Glaskörper. Es folgen hämorrhagische und fibrotische Narben, die je nach Ausmaß zur Amotio retinae führen können.^{122,125}

Bei drohender Netzhautablösung werden die entsprechenden Gefäße durch Laserkoagulation verödet, um so das Voranschreiten der Erkrankung zu verhindern.¹²⁶ Alternativ kann eine lokale Injektion von Anti-VEGF-Antikörpern in den Glaskörper des Auges erfolgen,¹²⁷ wobei diese Therapie derzeit noch für die meisten ROP-Stadien als experimentell gilt.

In der Literatur wurden schon viele zum Teil eng miteinander in Verbindung stehende Risikofaktoren zur Entstehung einer ROP beschrieben. Einig sind sich alle darin, dass ein sehr junges Gestationsalter sowie ein sehr niedriges Geburtsgewicht zu den bedeutendsten Risikofaktoren zählen.^{124,128-132} Eine ebenfalls unbestrittene und sehr wichtige Rolle spielt die Sauerstofftherapie.^{133,134} Starke Sauerstoffschwankungen vor allem in den ersten zwei Lebenswochen sollen die Entstehung einer ROP begünstigen.¹³⁵ Auch das Auftreten und Ausmaß von Komplikationen der Frühgeburtlichkeit wie interventionsbedürftige Apnoen, Sepsis, Transfusionen und mechanische Beatmung wurden als Risikofaktoren beschrieben.^{124,131} Karna et al. zeigten in ihren Ergebnissen, dass eine späte Gabe von postnatalen Steroiden nach den ersten drei Lebenswochen, eine Dauer der Steroidgabe von zwei Wochen oder länger sowie eine lange

Beatmungsdauer mit der Entstehung einer schweren ROP verknüpft sind.¹³⁶ Lloyd et al. vermutete, eine zusätzliche Sauerstoffgabe an Kinder mit einer Prethreshold-ROP könne das Fortschreiten zu einer Threshold-ROP vermindern, indem der für die Neovaskularisierung verantwortliche VEGF durch Sauerstoff gedrosselt würde. Ihre Ergebnisse wie auch die STOP-ROP 2000-Studie ließen einen solchen Trend erkennen, waren statistisch jedoch nicht signifikant.^{123,137} Die aktuellen Screening-Empfehlungen sehen vor, dass alle Frühgeborenen mit einem Gestationsalter < 32 Schwangerschaftswochen im Alter von mehr als 28 Tagen und einem Gestationsalter von mindestens 31 SSW augenärztlich fundskopiert werden müssen.^{138,139} In der Regel sind mehrere augenärztliche Untersuchungen während eines stationären Aufenthaltes notwendig. Diese Untersuchungen müssen regelmäßig, meist im Abstand von ein bis zwei Wochen, wiederholt werden, bis die Gefäßbildung am Augenhintergrund abgeschlossen ist (4-12 Wochen). Die Untersuchungen erfordern einen in der Diagnostik der ROP erfahrenen Netzhautspezialisten, können das Kind destabilisieren und sind für das Kind unangenehm bzw. schmerzhaft. Die seriellen Netzhautuntersuchungen werden in Deutschland bei jährlich über 6000 Frühgeborenen durchgeführt, obwohl letztlich weniger als 10% der Kinder tatsächlich einer operativen Intervention unterzogen werden.¹⁴⁰⁻¹⁴⁴ In unserer Studie erwies sich die NT-proBNP/Kreatinin-Ratio im Alter von 2 und 4 Wochen als ein akkurater prädiktiver Marker für eine nicht interventionspflichtige ROP.

Nur wenige Studien beschäftigten sich bisher mit dem Zusammenhang zwischen der Retina und den natriuretischen Peptiden.¹¹³ Fetale und neonatale Retina-Gefäße exprimieren den Rezeptor für BNP in hoher Dichte,¹⁴⁵ denn die BNP-vermittelte Vasodilatation kann der ROP in einem frühen Stadium Vorschub leisten. Tierexperimentell konnte eine Downregulation von ANP und Rezeptor NPRC in der Retina von Ratten mit einer diabetischen Retinopathie gezeigt werden.¹⁴⁶ Insgesamt muss man aber sagen, dass die Mechanismen der natriuretischen Peptide und deren Rezeptoren in der Pathogenese von vasoproliferativen Netzhauterkrankungen nicht gut verstanden sind.

Die Fallzahl unserer monozentrischen Studie ist jedoch zu klein, um daraus bereits Grenzwerte für allgemeingültige Empfehlungen abzuleiten. Aktuell werden diese Studienergebnisse europaweit in einer großen multizentrisch angelegten Studie überprüft. Die ermittelten Grenzwerte sollten es in Zukunft den behandelnden Ärzten ermöglichen, bei einer größeren Zahl von Frühgeborenen die Anzahl der durchgeführten

Netzhautspiegelungen nachhaltig zu senken. Während die Messung von NTproBNP in fast allen Akutkrankenhäusern wegen ihrer Bedeutung in der Diagnostik von Herzerkrankungen erwachsener Patienten fest etabliert ist, kommt dem Ergebnis der Studie dort eine besondere Bedeutung zu, wo serielle Netzhautspiegelungen durch entsprechend qualifizierte Augenärzte nicht ohne weiteres zur Verfügung stehen, was in Schwellenländern, aber auch abgelegenen Gebieten etablierter Industriestaaten ein ernsthaftes Problem darstellt.

Schwierig gestaltet sich auch eine nichtinvasive Diagnostik zur Früherkennung einer pulmonalen Hypertension bei Frühgeborenen. Der pulmonalvaskuläre Widerstand ist in den ersten Lebenstagen bei allen Neugeborenen erhöht und persistiert insbesondere bei Frühgeborenen, die später eine BPD entwickeln. Eine zentrale Bedeutung nimmt die transthorakale Echokardiographie in der initialen Abklärung der Verdachtsdiagnose einer pulmonalen Hypertension ein. Die Abschätzung des pulmonalarteriellen Druckes basiert auf der Doppler-gestützten Messung der Regurgitationsgeschwindigkeit (V_{max}) über die Trikuspidalklappe. Mit der vereinfachten Bernoulli-Gleichung ($\Delta P = 4 \times V_{max}^2$) wird der Druckgradient zwischen dem rechten Ventrikel und dem rechten Vorhof abgeschätzt. Dieses Verfahren hat sich allerdings als nicht sehr zuverlässig erwiesen.^{33,147,148}

In Bezug auf die Möglichkeit einer frühzeitigen Diagnose einer rechtsventrikulären Dysfunktion haben andere konventionelle echokardiographische Parameter (AT, rechtsventrikuläre Hypertrophie, Dilatation des rechten Ventrikels, Dilatation der Pulmonalarterie, ein abgeflachtes Interventrikularseptum) ebenfalls eine geringere Sensitivität bei Früh- und Reifgeborenen als bei älteren Patienten.^{71,149,150}

Da eine invasive rechtsventrikuläre Druckmessung eine enorme Belastung für Frühgeborene bedeuten würde und bei sehr kleinen Frühgeborenen auch technisch schwierig durchzuführen wäre, ist die Diagnostik auf weitere nichtinvasive Methoden angewiesen.

Als quantitativer Parameter bietet sich die maximale Vorwärtsbewegung des Trikuspidalanulus an, die entweder als TAPSE im M-Mode oder mittels Gewebe-Doppler-Echokardiographie bestimmt werden kann. Bei Erwachsenen erwies sich eine reduzierte TAPSE als ein ungünstiger prognostischer Parameter bei Patienten mit PHT.¹⁵¹ Koestenberger et al. präsentierten in ihrer Studie gestationsbezogene Referenzwerte für 258 Früh- und Reifgeborene.⁶⁷ Über die Evaluation dieses hoffnungsvollen Parameters bei Frühgeborenen mit einer BPD sind bisher keine Daten bekannt.

Als weiterer sensitiver echokardiographischer Parameter zur Einschätzung der rechtsventrikulären Funktion hat sich in mehreren Studien bei Erwachsenen der myokardiale Performance-Index des rechten Ventrikels (RIMP) erwiesen.^{152,153} Nur wenige Studien haben diesen Parameter bei Neugeborenen oder Kindern untersucht.¹⁵⁴⁻¹⁵⁷ Es konnte sogar bei Erwachsenen gezeigt werden, dass RIMP mit dem invasiv gemessenen pulmonalvaskulären Druck gut korreliert.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Sugiura et al. konnte tierexperimentell bestätigen, dass die globale Rechtsherzfunktion mittels RIMP beurteilt werden kann.¹⁶¹

In unserer Studie haben wir RIMP bei Frühgeborenen < 32 SSW im Alter von 2, 7, 14 und 28 Lebenstagen Doppler-echokardiographisch gemessen. Am 2. Lebenstag war RIMP bei allen Frühgeborenen mit und ohne Entwicklung einer BPD gleichermaßen erhöht. Ein stetiger Abfall der RIMP-Werte konnte bei allen Frühgeborenen ohne BPD beobachtet werden, aber nicht bei Frühgeborenen mit Entwicklung einer BPD. Somit konnten wir unsere Hypothese bestätigen. Ebenso wurde gezeigt, wie bereits auch in anderen Studien,^{155,158} dass RIMP unabhängig von Herzfrequenz, Blutdruck, mechanischer Beatmung und persistierendem Duktus arteriosus war. Da es zurzeit keinen optimalen echokardiographischen Parameter zur Einschätzung der rechtsventrikulären Funktion von Frühgeborenen gibt, erscheint uns die Messung von RIMP hilfreich zu sein – besonders bei Patienten, die ein erhöhtes Risiko haben, eine BPD zu entwickeln.¹⁶²

Aktuelle Studien zeigen, dass RIMP auch mittels der Gewebe-Doppler-Echokardiographie bei Frühgeborenen bestimmt werden kann.¹⁶³ Es bleibt derzeit aber offen, mit welcher Technik dieser Parameter sich am zuverlässigsten messen lässt. Die klinische Relevanz für diesen Parameter bei unseren Patienten könnte nicht nur im Therapiemonitoring wie beim Volumenmanagement, Diuretikatherapie, Sildenafilisierung liegen, sondern auch in der Prädiktion einer BPD-Entwicklung. Inwieweit RIMP dafür geeignet ist, bei spezifischen Therapieansätzen der BPD Anwendung zu finden, müssen zukünftige Studien zeigen.

In den letzten Jahren wurden neue echokardiographische Methoden entwickelt, die die Verformung des Herzmuskels untersuchen. Derzeit kommen zwei Techniken zur klinischen Anwendung: Die farbkodierte Gewebe-Doppler-Echokardiographie und die 2D-Speckle-Tracking-Echokardiographie. In unserer Studie beschäftigten wir uns mit der farbkodierten Gewebe-Doppler-Echokardiographie, da unsere Klinik zu Beginn der

Studie mehr Erfahrung mit dieser Technik vorweisen konnte. In mehreren Studien konnte bereits bei Erwachsenen und Kindern gezeigt werden, dass die neuen Parameter Strain (S) und Strain-Rate (SR) Veränderungen in der myokardialen Funktion detektieren können.⁷⁴⁻⁸³ Während ihre Bestimmung in der Versorgung von Erwachsenen und Kindern einen größer werdenden Stellenwert einnimmt, ist wenig darüber bekannt, welchen Einfluss Messfaktoren wie die Größe der „Region-of-interest“ (ROI) oder der Strain-Length (SL) auf die Reproduzierbarkeit der Messungen bei Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von unter 1500 g haben. Wir konnten für unsere kleinen Patienten optimale technische Einstellungen für die Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit der S- und SR-Bestimmung herausarbeiten. Das Optimum für die ROI-Breite lag bei ca. 2 mm, die SL sollte groß und die ROI-Länge klein gehalten werden. Diese Einstellungen entsprachen auch der Vorgehensweise von Nestaas et al.¹⁶⁴

Die Variationskoeffizienten für die Intra- und Interoperator-Variabilität lagen jedoch zwischen 15,1% und 65,2%. Beide waren für systolische Werte niedriger als für diastolische Werte. Die Reproduzierbarkeit war vergleichbar mit anderen Studien, die ältere Kinder untersucht haben.^{89,90,165-167} Gleichermäßen zeigte sich eine weniger gute Reproduzierbarkeit für diastolische Werte.

Basierend auf dem Hintergrund, dass Frühgeborene mit einem hsPDA oder einer BPD einer erhöhten kardialen Belastung ausgesetzt sein können,¹⁶⁸⁻¹⁷⁰ führten wir im Anschluss an die Optimierung der Messtechnik die Gewebe-Doppler-basierte S- und SR-Messung bei Frühgeborenen < 1500 g Geburtsgewicht durch.

Dabei zeigte sich, dass PSS und PSSR des rechten Ventrikels während der ersten 28 Lebenstage signifikant zunahmen. Den größten Anstieg konnte man jedoch während der ersten 14 Lebenstage feststellen, entsprechend den extremen Adaptationsvorgängen, denen besonders Frühgeborene ausgesetzt sind.^{2,3}

In Übereinstimmung mit anderen Studien bestätigten wir, dass PSS und PSSR in der rechten freien Herzwand höher waren als in der linken freien Herzwand.^{79,81,89-91,166,167}

Frühgeborene, die eine BPD entwickelten, hatten am 14. Lebenstag einen signifikant niedrigeren PSS im rechten Ventrikel, während Frühgeborene mit einem hsPDA am 14. Lebenstag einen signifikant niedrigeren PSS im linken Ventrikel aufwiesen. Da eine quantitative Beurteilung der systolischen RV-Funktion aufgrund der RV-Morphologie mit den gängigen Methoden, die für den linken Ventrikel angewendet werden, nicht möglich ist, und da die Voraussetzung einer gleichmäßigen, zylindrischen Form nicht vorhanden ist,^{147,171,172} erscheint uns die Bestimmung der neuen Parameter S und SR vor allem in

der rechtsventrikulären Funktionsdiagnostik sinnvoll zu sein. Dies belegen bereits einige aktuelle Studien.^{69,87,88,173,174}

Da die Berechnung der S und SR bei unseren Patienten „off-line“ im Anschluss an die Ultraschalluntersuchung stattfand, ist es derzeit unklar, welche Bedeutung diese neuen Parameter in der klinischen Routine bei Frühgeborenen erreichen können. Nicht zu vernachlässigen sind dabei auch die Einflussfaktoren bei der farbkodierten Gewebe-Doppler-Echokardiographie. Wie bei der konventionellen Dopplertechnik beschrieben, ist es auch bei dieser Gewebe-Dopplertechnik wichtig, die Winkelabhängigkeit zwischen Dopplerstrahl und Gewebebewegung zu beachten. Die Herzmuskelfasern führen Bewegungen in verschiedene Richtungen aus. Es werden radiale, longitudinale und zirkumferentielle Bewegungen ausgeführt. Daraus können Fehlerquellen resultieren, so dass empfohlen wird, dass der Winkel zwischen Bewegungsrichtung des zu untersuchenden Myokardbereiches und Ultraschallstrahls 20° nicht übersteigen sollte.¹⁷⁵ Um die niedrigen Myokardgeschwindigkeiten durch eine möglichst hohe Bildrate optimal zu erfassen, empfiehlt es sich, den Bildwinkel des zu untersuchenden Bereiches so schmal wie möglich zu halten.¹⁷⁶ Unter Berücksichtigung dieser Faktoren konnten wir in unserer Studie Bildraten von mindestens 400/s aufweisen.

Im Vergleich zur farbkodierten Gewebe-Doppler-Echokardiographie basiert die S- und SR-Berechnung mittels Speckle-Tracking auf der Analyse von Graubildpixelbewegungen, welche durch Reflektion, Streuung und Interferenz zwischen Gewebe und Ultraschallstrahlen im herkömmlichen 2D-Graubild verursacht wurden.¹⁷⁷ Diese Technik erlaubt es, ohne Dopplertechnik eine Beurteilung der Herzbewegung zu evaluieren. Damit ist diese Methode nicht abhängig vom Ultraschallwinkel, kann aber bei einer zu niedrigen Bildfrequenz in der präzisen Bildanalyse beeinflusst werden.¹⁷⁸ Auch wenn diese Methode in der Bestimmung der neuen Parameter S und SR durch eine halbautomatische Software-Analyse anwenderunabhängig erscheint und somit wesentliche Vorteile in der Durchführbarkeit und Reproduzierbarkeit aufweisen soll, ist die Datenlage bei Frühgeborenen zu der Fragestellung, mit welcher Technik eine kardiale Dysfunktion präziser eingeschätzt werden kann, noch unklar. Weitere klinische Studien sind erforderlich, um den künftigen Stellenwert dieser Methoden in der kardialen Diagnostik von Frühgeborenen bewerten zu können.

4. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden neue nichtinvasive diagnostische Parameter zur Beurteilung der kardialen Belastung bei Frühgeborenen in Abhängigkeit der Entwicklung einer BPD und eines hsPDA untersucht. Bei den Laborparametern wurden das natriuretische Peptid BNP und sein inaktives Fragment NT-proBNP untersucht. Dabei zeigte sich, dass die plasmatische BNP-Konzentration bereits am 2. Lebenstag gut mit einer später notwendigen Duktusintervention und einer erfolgreichen Duktustherapie korreliert. Ebenso konnte eine gute Korrelation zu den klassischen Duktusparametern LA/Ao-Ratio und Duktusdurchmesser festgestellt werden. Das inaktive Fragment NT-proBNP konnte erstmalig im Urin von Frühgeborenen nachgewiesen werden, wobei sich nicht nur eine Assoziation zum hsPDA, sondern auch zur BPD und zur schweren ROP fand. Unter Anwendung ROC-optimierter Cut-Offs für die NT-proBNP/Kreatinin-Ratio war es zu 100% möglich, alle Kinder auszuschließen, die keine schwere ROP entwickeln werden.

Mit Hilfe der konventionellen gepulsten Doppler-Echokardiographie bestimmten wir den rechtsmyokardialen Performance-Index RIMP bei Frühgeborenen während der ersten 28 Lebenstage. Dabei zeigte sich, dass alle Frühgeborenen bei Geburt mit gleich hohen RIMP-Werten starten. Bereits am 7. Lebenstag kommt es dann zum rapiden RIMP-Abfall bei Frühgeborenen, die keine BPD entwickeln. Dagegen bleibt RIMP bei Frühgeborenen erhöht, die eine BPD entwickeln.

Die Evaluierung der neuen Tissue-Doppler-basierten Strain- und Strain-Rate-Bestimmung erbrachte hoffnungsvolle Resultate, die vor allem in der Beurteilung der Rechtsherzfunktion von Frühgeborenen interessant werden können.

5. Literatur

1. Barrington KJ. Hypotension and shock in the preterm infant. *Semin Fetal Neonatal Med* 2008; **13**: 16–23.
2. Friedman AH, Fahey JT. The transition from fetal to neonatal circulation: normal responses and implications for infants with heart disease. *Semin Perinatol* 1993; **17**: 106–21.
3. Rudolph AM. Congenital cardiovascular malformations and the fetal circulation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; **95**: F132–6.
4. Kiserud T, Acharya G. The fetal circulation. *Prenat Diagn* 2004; **24**: 1049–59.
5. Gao Y, Raj JU. Regulation of the pulmonary circulation in the fetus and newborn. *Physiol Rev* 2010; **90**: 1291–335.
6. Bassan H, Feldman HA, Limperopoulos C, *et al.* Periventricular hemorrhagic infarction: risk factors and neonatal outcome. *Pediatr Neurol* 2006; **35**: 85–92.
7. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; **163**: 1723–9.
8. Wyllie J. Treatment of patent ductus arteriosus. *Semin Neonatol* 2003; **8**: 425–32.
9. Evans N. Diagnosis of patent ductus arteriosus in the preterm newborn. *Arch Dis Child* 1993; **68**: 58–61.
10. Hamrick SE, Hansmann G. Patent ductus arteriosus of the preterm infant. *Pediatrics* 2010; **125**: 1020–30.
11. Bancalari E, Claire N, Gonzalez A. Patent ductus arteriosus and respiratory outcome in premature infants. *Biol Neonate* 2005; **88**: 192–201.
12. Chiruvolu A, Jaleel MA. Pathophysiology of patent ductus arteriosus in premature neonates. *Early Hum Dev* 2009; **85**: 143–6.
13. Shimada S, Kasai T, Hoshi A, Murata A, Chida S. Cardiocirculatory effects of patent ductus arteriosus in extremely low-birth-weight infants with respiratory distress syndrome. *Pediatr Int* 2003; **45**: 255–62.
14. Redline RW, Wilson-Costello D, Hack M. Placental and other perinatal risk factors for chronic lung disease in very low birth weight infants. *Pediatr Res* 2002; **52**: 713–9.
15. Marshall DD, Kotelchuck M, Young TE, Bose CL, Kruyer L, O’Shea TM. Risk factors for chronic lung disease in the surfactant era: a North Carolina population-based study of very low birth weight infants. North Carolina Neonatologists Association. *Pediatrics* 1999; **104**: 1345–50.
16. Sosenko IRS, Fajardo MF, Claire N, Bancalari E. Timing of patent ductus arteriosus treatment and respiratory outcome in premature infants: a double-blind randomized controlled trial. *J Pediatr* 2012; **160**: 929–35.e1.

17. Schmidt B, Davis P, Moddemann D, *et al.* Long-term effects of indomethacin prophylaxis in extremely-low-birth-weight infants. *N Engl J Med* 2001; **344**: 1966–72.
18. Ment LR, Oh W, Ehrenkranz RA, *et al.* Low-dose indomethacin therapy and extension of intraventricular hemorrhage: a multicenter randomized trial. *J Pediatr* 1994; **124**: 951–5.
19. Skinner J. Diagnosis of patent ductus arteriosus. *Semin Neonatol* 2001; **6**: 49–61.
20. Koch J, Hensley G, Roy L, Brown S, Ramaciotti C, Rosenfeld CR. Prevalence of spontaneous closure of the ductus arteriosus in neonates at a birth weight of 1000 grams or less. *Pediatrics* 2006; **117**: 1113–21.
21. Gournay V, Roze JC, Kuster A, *et al.* Prophylactic ibuprofen versus placebo in very premature infants: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2004; **364**: 1939–44.
22. Madan JC, Kendrick D, Hagadorn JI, Frantz ID 3rd. Patent ductus arteriosus therapy: impact on neonatal and 18-month outcome. *Pediatrics* 2009; **123**: 674–81.
23. Bose CL, Laughon MM. Patent ductus arteriosus: lack of evidence for common treatments. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; **92**: F498–502.
24. Laughon MM, Simmons MA, Bose CL. Patency of the ductus arteriosus in the premature infant: is it pathologic? Should it be treated? *Curr Opin Pediatr* 2004; **16**: 146–51.
25. Van Overmeire B, Van de Broek H, Van Laer P, Weyler J, Vanhaesebrouck P. Early versus late indomethacin treatment for patent ductus arteriosus in premature infants with respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 2001; **138**: 205–11.
26. Wickremasinghe AC, Rogers EE, Piecuch RE, *et al.* Neurodevelopmental outcomes following two different treatment approaches (early ligation and selective ligation) for patent ductus arteriosus. *J Pediatr* 2012; **161**: 1065–72.
27. Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, Silva-Neto G. Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr* 1995; **126**: 605–10.
28. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006; **367**: 1421–31.
29. Northway WH Jr, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1967; **276**: 357–68.
30. Baquero H, Soliz A, Neira F, Venegas ME, Sola A. Oral sildenafil in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn: a pilot randomized blinded study. *Pediatrics* 2006; **117**: 1077–83.
31. Humbert M, Sitbon O, Simonneau G. Treatment of pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2004; **351**: 1425–36.

32. Baveja R, Christou H. Pharmacological strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006; **30**: 209–18.
33. Mourani PM, Sontag MK, Younoszai A, Ivy DD, Abman SH. Clinical Utility of Echocardiography for the Diagnosis and Management of Pulmonary Vascular Disease in Young Children With Chronic Lung Disease. *Pediatrics* 2008; **121**: 317–25.
34. Khemani E, McElhinney DB, Rhein L, *et al.* Pulmonary artery hypertension in formerly premature infants with bronchopulmonary dysplasia: clinical features and outcomes in the surfactant era. *Pediatrics* 2007; **120**: 1260–9.
35. Salah K, Kok WE, Eurlings LW, *et al.* A novel discharge risk model for patients hospitalised for acute decompensated heart failure incorporating N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels: a European coLLaboration on Acute decompensated Heart Failure: ELAN-HF Score. *Heart* 2013. [Epub ahead of print].
36. Wang R, Cao Z, Li Y, Yu K. Utility of N-terminal pro B-type natriuretic peptide and mean platelet volume in differentiating congestive heart failure from chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Cardiol* 2013. [Epub ahead of print].
37. Gruson D, Lepoutre T, Ahn SA, Rousseau MF. Value of proBNP1-108 testing for the risk stratification of patients with systolic heart failure. *Peptides* 2013. [Epub ahead of print].
38. Lepoutre T, Rousseau MF, Ahn SA, Gruson D. Measurement Nt-proBNP circulating concentrations in heart failure patients with a new point-of-care assay. *Clin Lab* 2013; **59**: 831–5.
39. Lin C-W, Zeng X-L, Jiang S-H, *et al.* Role of the NT-proBNP level in the diagnosis of pediatric heart failure and investigation of novel combined diagnostic criteria. *Exp Ther Med* 2013; **6**: 995–9.
40. McGrady M, Reid CM, Shiel L, *et al.* NT-proB natriuretic peptide, risk factors and asymptomatic left ventricular dysfunction: Results of the SCReening Evaluation of the Evolution of New Heart Failure Study (SCREEN-HF). *Int J Cardiol* 2013; **169**:133-8.
41. Nambi V, Liu X, Chambless LE, *et al.* Troponin T and N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide: A Biomarker Approach to Predict Heart Failure Risk: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Clin Chem* 2013. [Epub ahead of print].
42. De Vecchis R, Esposito C, Di Biase G, Ariano C. B-type natriuretic peptide. Guided vs. conventional care in outpatients with chronic heart failure: a retrospective study. *Minerva Cardioangiol* 2013; **61**: 437–49.
43. Ledwidge M, Gallagher J, Conlon C, *et al.* Natriuretic peptide-based screening and collaborative care for heart failure: the STOP-HF randomized trial. *JAMA* 2013; **310**: 66–74.
44. Rubattu S, Calvieri C, Pagliaro B, Volpe M. Atrial natriuretic peptide and regulation of vascular function in hypertension and heart failure: implications for novel therapeutic strategies. *J Hypertens* 2013; **31**: 1061–72.

45. Ghosh N, Haddad H. Atrial natriuretic peptides in heart failure: pathophysiological significance, diagnostic and prognostic value. *Can J Physiol Pharmacol* 2011; **89**: 587–91.
46. Potocki M, Breidhardt T, Reichlin T, *et al.* Comparison of midregional pro-atrial natriuretic peptide with N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure. *J Intern Med* 2010; **267**: 119–29.
47. Mir TS, Marohn S, Läer S, Eiselt M, Grollmus O, Weil J. Plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in control children from the neonatal to adolescent period and in children with congestive heart failure. *Pediatrics* 2002; **110**: e76.
48. Wu AH, Smith A, Wieczorek S, *et al.* Biological variation for N-terminal pro- and B-type natriuretic peptides and implications for therapeutic monitoring of patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol* 2003; **92**: 628–31.
49. Andersson S, Tikkanen I, Pesonen E, Meretoja O, Hynynen M, Fyhrquist F. Atrial natriuretic peptide in patent ductus arteriosus. *Pediatr Res* 1987; **21**: 396–8.
50. Holmström H, Hall C, Thaulow E. Plasma levels of natriuretic peptides and hemodynamic assessment of patent ductus arteriosus in preterm infants. *Acta Paediatr* 2001; **90**: 184–91.
51. Holmström H, Omland T. Natriuretic peptides as markers of patent ductus arteriosus in preterm infants. *Clin Sci* 2002; **103**: 79–80.
52. Ogawa Y, Itoh H, Nakagawa O, *et al.* Characterization of the 5'-flanking region and chromosomal assignment of the human brain natriuretic peptide gene. *J Mol Med* 1995; **73**: 457–63.
53. Forssmann WG, Richter R, Meyer M. The endocrine heart and natriuretic peptides: histochemistry, cell biology, and functional aspects of the renal urodilatin system. *Histochem Cell Biol* 1998; **110**: 335–57.
54. Vanderheyden M, Bartunek J, Goethals M. Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail* 2004; **6**: 261–8.
55. Tremblay J, Desjardins R, Hum D, Gutkowska J, Hamet P. Biochemistry and physiology of the natriuretic peptide receptor guanylyl cyclases. *Mol Cell Biochem* 2002; **230**: 31–47.
56. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev* 2006; **27**: 47–72.
57. Potter LR, Hunter T. Guanylyl cyclase-linked natriuretic peptide receptors: structure and regulation. *J Biol Chem* 2001; **276**: 6057–60.
58. Song DL, Kohse KP, Murad F. Brain natriuretic factor. Augmentation of cellular cyclic GMP, activation of particulate guanylate cyclase and receptor binding. *FEBS Lett* 1988; **232**: 125–9.

59. Kuhn M. Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Res Cardiol* 2004; **99**: 76–82.
60. Choi BM, Lee KH, Eun BL, *et al.* Utility of rapid B-type natriuretic peptide assay for diagnosis of symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants. *Pediatrics* 2005; **115**: e255–61.
61. Puddy VF, Amirmansour C, Williams AF, Singer DR. Plasma brain natriuretic peptide as a predictor of haemodynamically significant patent ductus arteriosus in preterm infants. *Clin Sci* 2002; **103**: 75–7.
62. Sanjeev S, Pettersen M, Lua J, Thomas R, Shankaran S, L'Ecuyer T. Role of plasma B-type natriuretic peptide in screening for hemodynamically significant patent ductus arteriosus in preterm neonates. *J Perinatol* 2005; **25**: 709–13.
63. Koch A, Singer H. Normal values of B type natriuretic peptide in infants, children, and adolescents. *Heart* 2003; **89**: 875–8.
64. King ME, Braun H, Goldblatt A, Liberthson R, Weyman AE. Interventricular septal configuration as a predictor of right ventricular systolic hypertension in children: a cross-sectional echocardiographic study. *Circulation* 1983; **68**: 68–75.
65. Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, *et al.* Reference Values of Tricuspid Annular Peak Systolic Velocity in Healthy Pediatric Patients, Calculation of Z Score, and Comparison to Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion. *Am J Cardiol* 2012; **109**: 116–21.
66. Lamia B, Teboul J-L, Monnet X, Richard C, Chemla D. Relationship between the tricuspid annular plane systolic excursion and right and left ventricular function in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2007; **33**: 2143–9.
67. Koestenberger M, Nagel B, Ravekes W, *et al.* Systolic right ventricular function in preterm and term neonates: reference values of the tricuspid annular plane systolic excursion (TAPSE) in 258 patients and calculation of Z-score values. *Neonatology* 2011; **100**: 85–92.
68. Berger M, Haimowitz A, Van Tosh A, Berdoff RL, Goldberg E. Quantitative assessment of pulmonary hypertension in patients with tricuspid regurgitation using continuous wave Doppler ultrasound. *J Am Coll Cardiol* 1985; **6**: 359–65.
69. Melek M, Esen O, Esen AM, *et al.* Tissue Doppler Evaluation of Tricuspid Annulus for Estimation of Pulmonary Artery Pressure in Patients with COPD. *Lung* 2006; **184**: 121–31.
70. Yared K, Noseworthy P, Weyman AE, McCabe E, Picard MH, Baggish AL. Pulmonary artery acceleration time provides an accurate estimate of systolic pulmonary arterial pressure during transthoracic echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2011; **24**: 687–92.
71. Su BH, Watanabe T, Shimizu M, Yanagisawa M. Doppler assessment of pulmonary artery pressure in neonates at risk of chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997; **77**: F23–27.

72. Alp H, Karaarslan S, Baysal T, Cimen D, Ors R, Oran B. Normal values of left and right ventricular function measured by M-mode, pulsed doppler and Doppler tissue imaging in healthy term neonates during a 1-year period. *Early Hum Dev* 2012; **88**: 853–9.
73. Voigt JU, Lindenmeier G, Werner D, *et al.* Strain rate imaging for the assessment of preload-dependent changes in regional left ventricular diastolic longitudinal function. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; **15**: 13–9.
74. Abd El Rahman MY, Hui W, Timme J, *et al.* Analysis of atrial and ventricular performance by tissue Doppler imaging in patients with atrial septal defects before and after surgical and catheter closure. *Echocardiography* 2005; **22**: 579–85.
75. Dandel M, Hetzer R. Echocardiographic strain and strain rate imaging — clinical applications. *Int J Cardiol* 2009; **132**: 11–24.
76. Orhan AL, Uslu N, Dayi SU, *et al.* Effects of isolated obesity on left and right ventricular function: a tissue Doppler and strain rate imaging study. *Echocardiography* 2010; **27**: 236–43.
77. Leung DY, Ng AC. Emerging clinical role of strain imaging in echocardiography. *Heart Lung Circ* 2010; **19**: 161–74.
78. Goebel B, Poerner T, Gorenflo M, *et al.* Regional myocardial function in children with chronic aortic regurgitation. *Echocardiography* 2010; **27**: 1021–7.
79. Nestaas E, Støylen A, Brunvand L, Fugelseth D. Tissue Doppler derived longitudinal strain and strain rate during the first 3 days of life in healthy term neonates. *Pediatr Res* 2009; **65**: 357–62.
80. Tatsumi K, Tanaka H, Kataoka T, *et al.* Impact of preserved myocardial contractile function in the segments attached to the papillary muscles on reduction in functional mitral regurgitation. *Echocardiography* 2013; **30**: 147–54.
81. Pena JL, da Silva MG, Alves JM, *et al.* Sequential changes of longitudinal and radial myocardial deformation indices in the healthy neonate heart. *J Am Soc Echocardiogr* 2010; **23**: 294–300.
82. Pauliks LB, Ündar A, Clark JB, Myers JL. Intraoperative techniques to assess cardiac function—feasibility of strain rate imaging in the perioperative period in children. *ASAIO J* 2008; **54**: 454–7.
83. Gaber R, Kotb NA, Ghazy M, Nagy HM, Salama M, Elhendy A. Tissue Doppler and strain rate imaging detect improvement of myocardial function in iron deficient patients with congestive heart failure after iron replacement therapy. *Echocardiography* 2012; **29**: 13–8.
84. Di Salvo G, Pacileo G, Del Giudice EM, *et al.* Abnormal myocardial deformation properties in obese, non-hypertensive children: an ambulatory blood pressure monitoring, standard echocardiographic, and strain rate imaging study. *Eur Heart J* 2006; **27**: 2689–95.

85. Marcus KA, Barends M, Morava-Kozicz E, Feuth T, de Korte CL, Kapusta L. Early detection of myocardial dysfunction in children with mitochondrial disease: an ultrasound and two-dimensional strain echocardiography study. *Mitochondrion* 2011; **11**: 405–12.
86. Khoo NS, Smallhorn JF, Kaneko S, Myers K, Kutty S, Tham EB. Novel insights into RV adaptation and function in hypoplastic left heart syndrome between the first 2 stages of surgical palliation. *JACC Cardiovasc Imaging* 2011; **4**: 128–37.
87. Naderi N, Ojaghi Haghighi Z, Amin A, *et al.* Utility of right ventricular strain imaging in predicting pulmonary vascular resistance in patients with pulmonary hypertension. *Congest Heart Fail* 2013; **19**: 116–22.
88. Hardegree EL, Sachdev A, Villarraga HR, *et al.* Role of serial quantitative assessment of right ventricular function by strain in pulmonary arterial hypertension. *Am J Cardiol* 2013; **111**: 143–8.
89. Poon CY, Edwards JM, Joshi S, Kotecha S, Fraser AG. Optimization of myocardial deformation imaging in term and preterm infants. *Eur J Echocardiogr* 2011; **12**: 247–54.
90. Joshi S, Edwards JM, Wilson DG, Wong JK, Kotecha S, Fraser AG. Reproducibility of myocardial velocity and deformation imaging in term and preterm infants. *Eur J Echocardiogr* 2010; **11**: 44–50.
91. 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. *Cardiol Young* 2011; **21**: 1–7.
92. Kluckow M, Evans N. Early echocardiographic prediction of symptomatic patent ductus arteriosus in preterm infants undergoing mechanical ventilation. *J Pediatr* 1995; **127**: 774–9.
93. Evans N, Iyer P. Assessment of ductus arteriosus shunt in preterm infants supported by mechanical ventilation: effect of interatrial shunting. *J Pediatr* 1994; **125**: 778–85.
94. Evans N, Iyer P. Longitudinal changes in the diameter of the ductus arteriosus in ventilated preterm infants: correlation with respiratory outcomes. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995; **72**: F156–61.
95. Flynn PA, da Graca RL, Auld PA, Nesin M, Kleinman CS. The use of a bedside assay for plasma B-type natriuretic peptide as a biomarker in the management of patent ductus arteriosus in premature neonates. *J Pediatr* 2005; **147**: 38–42.
96. Rudiger A, Gasser S, Fischler M, Hornemann T, von Eckardstein A, Maggiorini M. Comparable increase of B-type natriuretic peptide and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients with severe sepsis, septic shock, and acute heart failure. *Crit Care Med* 2006; **34**: 2140–4.
97. Bar-Oz B, Lev-Sagie A, Arad I, Salpeter L, Nir A. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide concentrations in mothers just before delivery, in cord blood, and in newborns. *Clin Chem* 2005; **51**: 926–7.

98. Kwinta P, Rudziński A, Kruczek P, Kordon Z, Pietrzyk JJ. Can early echocardiographic findings predict patent ductus arteriosus? *Neonatology* 2009; **95**: 141–8.
99. Kluckow M, Seri I, Evans N. Functional echocardiography: an emerging clinical tool for the neonatologist. *J Pediatr* 2007; **150**: 125–30.
100. Ramakrishnan S, Heung YM, Round J, Morris TP, Collinson P, Williams AF. Early N-terminal pro-brain natriuretic peptide measurements predict clinically significant ductus arteriosus in preterm infants. *Acta Paediatr* 2009; **98**: 1254–9.
101. Nuntnarumit P, Khositseth A, Thanomsingh P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and patent ductus arteriosus in preterm infants. *J Perinatol* 2009; **29**: 137–42.
102. Farombi-Oghuvbu I, Matthews T, Mayne PD, Guerin H, Corcoran JD. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide: a measure of significant patent ductus arteriosus. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; **93**: F257–60.
103. Hsu JH, Yang SN, Chen HL, Tseng HI, Dai ZK, Wu JR. B-type natriuretic peptide predicts responses to indomethacin in premature neonates with patent ductus arteriosus. *J Pediatr* **157**: 79–84.
104. El-Khuffash AF, Amoroso M, Culliton M, Molloy EJ. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a marker of ductal haemodynamic significance in preterm infants: a prospective observational study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2007; **92**: F421–2.
105. Cortés R, Portolés M, Salvador A, *et al.* Diagnostic and prognostic value of urine NT-proBNP levels in heart failure patients. *Eur J Heart Fail* 2006; **8**: 621–7.
106. Linssen GC, Damman K, Hillege HL, Navis G, van Veldhuisen DJ, Voors AA. Urinary N-terminal prohormone brain natriuretic peptide excretion in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2009; **120**: 35–41.
107. Ng LL, Geeranavar S, Jennings SC, Loke I, O'Brien RJ. Diagnosis of heart failure using urinary natriuretic peptides. *Clin Sci* 2004; **106**: 129–33.
108. Kroll MH, Srisawasdi P. The clearance of BNP modeled using the NT-proBNP-BNP relationship. *Biosystems* 2007; **88**: 147–55.
109. Clyman R, Cassady G, Kirklin JK, Collins M, Philips JB 3rd. The role of patent ductus arteriosus ligation in bronchopulmonary dysplasia: reexamining a randomized controlled trial. *J Pediatr* 2009; **154**: 873–6.
110. Joseph L, Nir A, Hammerman C, Goldberg S, Ben Shalom E, Picard E. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as a marker of bronchopulmonary dysplasia in premature infants. *Am J Perinatol*; **27**: 381–6.
111. Lammers AE, Hislop AA, Haworth SG. Prognostic value of B-type natriuretic peptide in children with pulmonary hypertension. *Int J Cardiol* 2009; **135**: 21–6.
112. Salzmann J, Flitcroft D, Bunce C, Gordon D, Wormald R, Migdal C. Brain natriuretic peptide: identification of a second natriuretic peptide in human aqueous humour. *Br J Ophthalmol* 1998; **82**: 830–4.

113. Rollín R, Mediero A, Roldán-Pallarés M, Fernández-Cruz A, Fernández-Durango R. Natriuretic peptide system in the human retina. *Mol Vis* 2004; **10**: 15–22.
114. Andreassen AK, Wergeland R, Simonsen S, Geiran O, Guevara C, Ueland T. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide as an indicator of disease severity in a heterogeneous group of patients with chronic precapillary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 2006; **98**: 525–9.
115. Fijalkowska A, Kurzyna M, Torbicki A, *et al.* Serum N-terminal brain natriuretic peptide as a prognostic parameter in patients with pulmonary hypertension. *Chest* 2006; **129**: 1313–21.
116. Giaid A, Yanagisawa M, Langleben D, *et al.* Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1993; **328**: 1732–9.
117. Christman BW, McPherson CD, Newman JH, *et al.* An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992; **327**: 70–5.
118. Zhang Q, Shi ZY, Luo CH, *et al.* Application of NT-proBNP in ventilator weaning for preterm infants with RDS. *Pediatr Pulmonol* 2013; [Epub ahead of print].
119. Thébaud B, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia: where have all the vessels gone? Roles of angiogenic growth factors in chronic lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; **175**: 978–85.
120. Hayes D Jr, Feola DJ, Murphy BS, Shook LA, Ballard HO. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Respiration*; **79**: 425–36.
121. Sapiéha P, Joyal JS, Rivera JC, *et al.* Retinopathy of prematurity: understanding ischemic retinal vasculopathies at an extreme of life. *J Clin Invest*; **120**: 3022–32.
122. Heckmann M. [Pathogenesis of retinopathy of prematurity]. *Ophthalmologe* 2008; **105**: 1101–7.
123. Lloyd J, Askie L, Smith J, Tarnow-Mordi W. Supplemental oxygen for the treatment of prethreshold retinopathy of prematurity. *Cochrane Database Syst Rev* 2003;(2): CD003482.
124. Palmer EA, Flynn JT, Hardy RJ, *et al.* Incidence and early course of retinopathy of prematurity. The Cryotherapy for Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *Ophthalmology* 1991; **98**: 1628–40.
125. Chen J, Smith LE. Retinopathy of prematurity. *Angiogenesis* 2007; **10**: 133–40.
126. Early treatment for retinopathy of Prematurity Cooperative Group. Revised indications for the treatment of retinopathy of prematurity: Results of the early treatment for retinopathy of prematurity randomized trial. *Arch Ophthalmol* 2003; **121**: 1684–96.
127. Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ, BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med* 2011; **364**: 603–15.

128. Luty GA, Chan-Ling T, Phelps DL, *et al.* Proceedings of the Third International Symposium on Retinopathy of Prematurity: an update on ROP from the lab to the nursery (November 2003, Anaheim, California). *Mol Vis* 2006; **12**: 532–80.
129. Smith LE. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Semin Neonatol* 2003; **8**: 469–73.
130. Tasman W, Patz A, McNamara JA, Kaiser RS, Trese MT, Smith BT. Retinopathy of prematurity: the life of a lifetime disease. *Am J Ophthalmol* 2006; **141**: 167–74.
131. Gunn TR, Easdown J, Outerbridge EW, Aranda JV. Risk factors in retrolental fibroplasia. *Pediatrics* 1980; **65**: 1096–100.
132. Flynn JT, Bancalari E, Bachynski BN, *et al.* Retinopathy of prematurity. Diagnosis, severity, and natural history. *Ophthalmology* 1987; **94**: 620–9.
133. Flynn JT, Bancalari E, Snyder ES, *et al.* A cohort study of transcutaneous oxygen tension and the incidence and severity of retinopathy of prematurity. *N Engl J Med* 1992; **326**: 1050–4.
134. Phelps DL. Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in kittens recovered in 28% oxygen. *Pediatr Res* 1988; **24**: 106–9.
135. Cunningham S, Fleck BW, Elton RA, McIntosh N. Transcutaneous oxygen levels in retinopathy of prematurity. *Lancet* 1995; **346**: 1464–5.
136. Karna P, Muttineni J, Angell L, Karmaus W. Retinopathy of prematurity and risk factors: a prospective cohort study. *BMC Pediatr* 2005; **5**: 18.
137. Supplemental Therapeutic Oxygen for Prethreshold Retinopathy Of Prematurity (STOP-ROP), a randomized, controlled trial. I: primary outcomes. *Pediatrics* 2000; **105**: 295–310.
138. O’Sullivan A, O’Connor M, Brosnahan D, McCreery K, Dempsey EM. Sweeten, soother and swaddle for retinopathy of prematurity screening: a randomised placebo controlled trial. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2010; **95**: F419–22.
139. Fierson WM, American Academy of Pediatrics Section on Ophthalmology, American Academy of Ophthalmology, American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, American Association of Certified Orthoptists. Screening examination of premature infants for retinopathy of prematurity. *Pediatrics* 2013; **131**: 189–95.
140. Hoogerwerf A, Schalijs-Delfos NE, van Schooneveld MJ, Termote JU. Incidence of retinopathy of prematurity over the last decade in the Central Netherlands. *Neonatology* 2010; **98**: 137–42.
141. Fortes Filho JB, Eckert GU, Valiatti FB, Dos Santos PG, da Costa MC, Procianoy RS. The influence of gestational age on the dynamic behavior of other risk factors associated with retinopathy of prematurity (ROP). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; **248**: 893–900.
142. Yang MB, Donovan EF. Risk analysis and an alternative protocol for reduction of screening for retinopathy of prematurity. *J AAPOS* 2009; **13**: 539–45.

143. Durnian JM, Clark DI. Retinopathy of prematurity: keeping the status quo. A case series detailing the importance of keeping the current guidelines for screening. *Br J Ophthalmol* 2010; **94**: 1693–4.
144. Başmak H, Niyaz L, Sahin A, Erol N, Gursoy HH. Retinopathy of prematurity: screening guidelines need to be reevaluated for developing countries. *Eur J Ophthalmol*; **20**: 752–5.
145. Kozulin P, Natoli R, Bumsted O'Brien KM, Madigan MC, Provis JM. The cellular expression of antiangiogenic factors in fetal primate macula. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; **51**: 4298–306.
146. Rollín R, Mediero A, Fernández-Cruz A, Fernández-Durango R. Downregulation of the atrial natriuretic peptide/natriuretic peptide receptor-C system in the early stages of diabetic retinopathy in the rat. *Mol Vis* 2005; **11**: 216–24.
147. Arcasoy SM, Christie JD, Ferrari VA, *et al.* Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension in patients with advanced lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; **167**: 735–40.
148. Fisher MR, Forfia PR, Chamera E, *et al.* Accuracy of Doppler echocardiography in the hemodynamic assessment of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; **179**: 615–21.
149. Murase M, Ishida A. Serial pulsed Doppler assessment of pulmonary artery pressure in very low birth-weight infants. *Pediatr Cardiol* 2000; **21**: 452–7.
150. Skinner JR, Hunter S, Hey EN. Haemodynamic features at presentation in persistent pulmonary hypertension of the newborn and outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1996; **74**: F26–32.
151. Forfia PR, Fisher MR, Mathai SC, *et al.* Tricuspid annular displacement predicts survival in pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; **174**: 1034–41.
152. Tei C, Dujardin KS, Hodge DO, *et al.* Doppler echocardiographic index for assessment of global right ventricular function. *J Am Soc Echocardiogr* 1996; **9**: 838–47.
153. Yeo TC, Dujardin KS, Tei C, Mahoney DW, McGoon MD, Seward JB. Value of a Doppler-derived index combining systolic and diastolic time intervals in predicting outcome in primary pulmonary hypertension. *Am J Cardiol* 1998; **81**: 1157–61.
154. Ishii M, Eto G, Tei C, *et al.* Quantitation of the global right ventricular function in children with normal heart and congenital heart disease: a right ventricular myocardial performance index. *Pediatr Cardiol* 2000; **21**: 416–21.
155. Eidem BW, Tei C, O'Leary PW, Cetta F, Seward JB. Nongeometric quantitative assessment of right and left ventricular function: myocardial performance index in normal children and patients with Ebstein anomaly. *J Am Soc Echocardiogr* 1998; **11**: 849–56.

156. Tsutsumi T, Ishii M, Eto G, Hota M, Kato H. Serial evaluation for myocardial performance in fetuses and neonates using a new Doppler index. *Pediatr Int* 1999; **41**: 722–7.
157. Murase M, Ishida A, Morisawa T. Left and right ventricular myocardial performance index (Tei index) in very-low-birth-weight infants. *Pediatr Cardiol* 2009; **30**: 928–35.
158. Blanchard DG, Malouf PJ, Gurudevan SV, *et al.* Utility of right ventricular Tei index in the noninvasive evaluation of chronic thromboembolic pulmonary hypertension before and after pulmonary thromboendarterectomy. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009; **2**: 143–9.
159. Huez S, Vachier JL, Naeije R. Improvement in right ventricular function during reversibility testing in pulmonary arterial hypertension: a case report. *Cardiovasc Ultrasound* 2009; **7**: 9.
160. Vonk MC, Sander MH, van den Hoogen FH, van Riel PL, Verheugt FW, van Dijk AP. Right ventricle Tei-index: a tool to increase the accuracy of non-invasive detection of pulmonary arterial hypertension in connective tissue diseases. *Eur J Echocardiogr* 2007; **8**: 317–21.
161. Sugiura T, Suzuki S, Hussein MH, Kato T, Togari H. Usefulness of a new Doppler index for assessing both ventricular functions and pulmonary circulation in newborn piglet with hypoxic pulmonary hypertension. *Pediatr Res* 2003; **53**: 927–32.
162. Bhandari A, Bhandari V. Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2009; **123**: 1562–73.
163. Yates AR, Welty SE, Gest AL, Cua CL. Myocardial tissue Doppler changes in patients with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 2008; **152**: 766–70.
164. 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 Med Biol* 2007; **33**: 270–8.
165. Pena JL, da Silva MG, Faria SC, *et al.* Quantification of regional left and right ventricular deformation indices in healthy neonates by using strain rate and strain imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2009; **22**: 369–75.
166. Boettler P, Hartmann M, Watzl K, *et al.* Heart rate effects on strain and strain rate in healthy children. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; **18**: 1121–30.
167. Weidemann F, Eyskens B, Jamal 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. *J Am Soc Echocardiogr* 2002; **15**: 20–8.
168. Bhat R, Salas AA, Foster C, Carlo WA, Ambalavanan N. Prospective analysis of pulmonary hypertension in extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2012; **129**: e682–9.
169. Schneider DJ, Moore JW. Patent ductus arteriosus. *Circulation* 2006; **114**: 1873–82.

170. Christou H, Brodsky D. Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 2005; **20**: 76–87.
171. Mourani PM, Ivy DD, Gao D, Abman SH. Pulmonary vascular effects of inhaled nitric oxide and oxygen tension in bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; **170**: 1006–13.
172. López-Candales A. Applicability of automated functional imaging for assessing right ventricular function. *Echocardiography* 2013; **30**: 919–28.
173. Learn CP, Yates AR, Nicholson L, Milton K, Lloyd E, Cua CL. Tissue Doppler measurements correlate with central venous pressure in pediatric patients after cardiac surgery. *ASAIO J* 2010; **56**: 377-82.
174. Levy PT, Holland MR, Sekarski TJ, Hamvas A, Singh GK. Feasibility and reproducibility of systolic right ventricular strain measurement by speckle-tracking echocardiography in premature infants. *J Am Soc Echocardiogr* 2013; **26**: 1201–13.
175. Nikitin NP, Witte KK. Application of tissue Doppler imaging in cardiology. *Cardiology* 2004; **101**: 170–84.
176. Pellerin D, Sharma R, Elliott P, Veyrat C. Tissue Doppler, strain, and strain rate echocardiography for the assessment of left and right systolic ventricular function. *Heart* 2003; **89 Suppl 3**: iii9–17.
177. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, *et al*. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation* 2005; **112**: 3149–56.
178. Ingul CB, Torp H, Aase SA, Berg S, Støylen A, Slordahl SA. Automated analysis of strain rate and strain: feasibility and clinical implications. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; **18**: 411–8.

Danksagung

Damit ist es an der Zeit, mich bei denjenigen zu bedanken, die mich in dieser spannenden Phase meiner akademischen Laufbahn begleitet haben und damit direkt oder indirekt zum Gelingen der Habilitation beigetragen haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt dem Direktor der Klinik für Neonatologie der Charité Universitätsmedizin Berlin, Herrn Prof. Dr. med. Christoph Bühner, unter dessen Anleitung und Unterstützung ich meine wissenschaftliche Arbeit durchführen durfte.

Ebenso geht mein Dank an PD Dr. sc. nat. Gerd Schmalisch und Prof. Dr. med. Michael Obladen, die mich in den vergangenen Jahren mit bereichernden Tipps und Diskussionsbeiträgen wiederholt in neue thematische Bahnen gelenkt haben. Nicht unerwähnt bleiben dürfen aber meine ehemaligen Lehrer Prof. Dr. med. Ulrich Wemmer, Prof. Dr. med. Karl-Heinz Niessen und PD Dr. med. Thomas Schaible, die in mir Wissensdurst geweckt und mich immer unterstützt und motiviert haben.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn PD Dr. med. Lothar Schmitz, der maßgeblich an den echokardiographischen Auswertungen beteiligt war. Herrn Dr. rer. nat. Christian Müller danke ich für die Unterstützung bei den Labor-Analysen. Des Weiteren möchte ich mich bei den Doktoranden Herrn Sven Helfer, David Karle und Frau Stefanie Rhode bedanken. Frau Beate Bierotte bin ich zu Dank verpflichtet für die Bereitstellung der echokardiographischen Analyse-Software.

Für die jahrelange Unterstützung bei der Durchführung der Statistik meiner Studien möchte ich sehr herzlich Herrn PD Dr. sc. nat. Gerd Schmalisch und Herrn Boris Metze danken.

Eine herausragende Stellung in jeglicher Hinsicht nimmt meine Familie ein, ohne ihre liebevolle Fürsorge wäre diese Arbeit nicht zu dem Werk geworden, das es heute ist.

Eidesstattliche Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,

- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,

- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Dr. Christoph Czernik

Berlin, den 06. November 2013