

## **Streszczenie pracy doktorskiej lek. Wojciecha Durlaka**

**Promotor: prof. dr hab. Przemko Kwinta**

**Temat pracy doktorskiej: „Assessment of selected aspects of long-term respiratory complications of prematurity”**

**(„Ocena wybranych aspektów odległych powikłań wcześniactwa związanych z układem oddechowym”) – cykl publikacji**

Postęp opieki neonatologicznej ostatnich lat przyczynił się do przesunięcia granicy przeżycia noworodków urodzonych ze skrajnie małą urodzeniową masą ciała. Jednocześnie odległe powikłania wcześniactwa istotnie wpływają na jakość życia i zapadalność na przewlekłe choroby w późniejszym wieku. W dużych badaniach kohortowych wykazano, że powikłania związane z układem oddechowym przyczyniają się do zwiększonej umieralności u urodzonych przedwcześnie dorosłych nawet w wieku 30-45 lat.<sup>35</sup> BPD stanowi najczęstsze odległe powikłanie porodu przedwczesnego związane z układem oddechowym.<sup>3</sup>

Wyniki długoterminowych badań obserwacyjnych wskazują na istotny wpływ BPD na strukturę i czynność układu oddechowego.<sup>3</sup> Wykazano częstsze występowanie objawów przypominających astmę oskrzelową w wieku przedszkolnym i szkolnym u dzieci z BPD.<sup>36</sup> W tej grupie dzieci często obserwuje się występowanie kaszlu, obturacji dolnych dróg oddechowych, nadreaktywności oskrzeli, jak również objawów związanych z nietolerancją wysiłku fizycznego.<sup>17,37,38</sup> Stwierdzono również, że wskaźniki czynności układu oddechowego, takie jak natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa (*Forced Expiratory Volume in 1 second – FEV<sub>1</sub>*) charakteryzują się trwałym obniżeniem w porównaniu do dzieci urodzonych w fizjologicznym terminie porodu.<sup>39</sup> Opisano także utrwalone zmiany o charakterze restrykcyjnym związane z zaburzeniami alweolaryzacji, prowadzące do zmniejszenia zdolności dyfuzyjnej gazów.

Powyższe dane wskazują na przewlekły charakter uszkodzenia układu oddechowego związanego z porodem przedwczesnym. Dotyczy ono zarówno dróg oddechowych, jak i miąższu płucnego i wpływa na jakość życia w późniejszych latach.

Jednocześnie należy podkreślić, że ściśle monitorowanie czynności układu oddechowego za pomocą obiektywnych metod napotyka na istotne trudności, zwłaszcza w grupie dzieci przedszkolnych i wczesnoszkolnych. Jest to związane z ograniczoną kooperacją tych dzieci i brakiem wystandaryzowanych metod oceny czynnościowej układu oddechowego.

## **Cel badań, problemy badawcze**

Głównym celem prowadzonych badań było: poszukiwanie nowych metod oceny czynności układu oddechowego u dzieci w wieku przedszkolnym charakteryzujących się ograniczoną kooperacją oraz przekrojowa ocena odległych niekorzystnych następstw związanych z układem oddechowym występujących u dzieci urodzonych z bardzo małą urodzeniową masą ciała.

Szczegółowej analizie poddano następujące zagadnienia:

1. Ocena możliwości wykorzystania segmentografii impedancji elektrycznej klatki piersiowej (*Electrical Impedance Segmentography* - EIS) do opisu czynności układu oddechowego u dzieci urodzonych z bardzo małą urodzeniową masą ciała (*very low birth weight* – VLBW) w wieku 4 lat
2. Ocena za pomocą EIS wzorca wentylacji u spontanicznie oddychających dzieci z bardzo małą urodzeniową masą ciała w wieku 4 lat
3. Przekrojowa ocena częstości powikłań związanych z układem oddechowym oraz czynności układu oddechowego z wykorzystaniem oscylometrii impulsowej (IOS) oraz spirometrii w tej samej grupie dzieci w wieku 7 lat.
4. Analiza przebiegu powikłań związanych z układem oddechowym w czasie poprzez porównaniu wyników uzyskanych w wieku 4 lat i 7 lat w tej samej kohorcie dzieci.

## **Material**

### **Material (dotyczy artykułów 2 i 3)**

W wymienionych pracach oceniano odległe następstwa związane z układem oddechowym w grupie dzieci urodzonych z VLBW w okresie od października 2008 do listopada 2010r. Wszystkie dzieci włączone do analizy były po urodzeniu hospitalizowane w Oddziale Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie. Podczas hospitalizacji dokonywano prospektywnej rejestracji danych dotyczących przebiegu klinicznego. Kryteriami włączenia były: urodzeniowa masa ciała  $\leq 1500\text{g}$  oraz wiek płodowy w chwili urodzenia  $\leq 32$  tygodni. Obecność mnogich wad wrodzonych stanowiła kryterium wyłączenia z udziału w badaniu. Ocenę czynności układu oddechowego prowadzono dwukrotnie w tej samej grupie dzieci, w wieku 4 lat, a następnie w wieku 7 lat.

## **Metody**

### **Metody (dotyczy artykułu nr 2)**

Wszystkie dzieci włączone do badania poddano podczas jednorazowej wizyty badaniu ankietowemu oceniającemu występowanie objawów związanych z układem oddechowym.

Następnie u każdego dziecka dokonywano rejestracji zmian impedancji klatki piersiowej za pomocą EIS podczas spokojnego oddychania w pozycji siedzącej. Po zarejestrowaniu zapisu podstawowego każdy uczestnik badania otrzymywał 400µg salbutamolu za pomocą inhalatora ciśnieniowego (pMDI) z komorą inhalacyjną. Następnie po ok. 15 minutach ponownie rejestrowano zapis za pomocą EIS.

EIS stanowi nieinwazyjną metodę pozwalającą na obserwację lokalnych zmian upowietrzenia płuc w czasie rzeczywistym. Zasada działania urządzenia, podobnie jak w przypadku EIT polega na pomiarze zmian oporu elektrycznego. W badaniu wykorzystuje się 10 elektrod umieszczanych na skórze klatki piersiowej – dwie umieszczone centralnie z przodu i z tyłu oraz 4 pary elektrod umieszczonych z przodu i z tyłu klatki piersiowej w segmentach: górnym prawym, górnym lewym, dolnym prawym, dolnym lewym. Metoda umożliwia ocenę zmienności oporu elektrycznego klatki piersiowej w trakcie cyklu oddechowego, jak również zmian długoterminowych w dwóch punktach czasowych u tego samego pacjenta. Analizie poddano wartości mediany amplitudy wdechowo-wydechowej impedancji elektrycznej w poszczególnych segmentach oraz współczynnik segmentarnej niehomogenności wentylacji (II) wyliczony na podstawie krótkoterminowej zmienności amplitudy. Oceniono zmiany w zakresie powyższych parametrów po podaniu  $\beta_2$ -mimetyku.

### **Metody (dotyczy artykułu nr 3)**

Podczas jednej wizyty ambulatoryjnej u wszystkich dzieci włączonych do badania dokonano oceny kwestionariuszowej objawów związanych z układem oddechowym, częstości występowania astmy oskrzelowej, nawracających zakażeń układu oddechowego, przyjmowanych leków wziewnych. Do oceny czynnościowej układu oddechowego wykorzystano dwie metody: IOS oraz spirometrię. Parametry czynnościowe rejestrowano dwukrotnie: przed oraz 15 minut po podaniu 400µg salbutamolu przy użyciu inhalatora ciśnieniowego z komorą inhalacyjną.

Badanie oscylometrii impulsowej wykonywano przy użyciu spirometru Jaeger MasterScreen (Carefusion Technologies, San Diego California, USA). Rejestracja parametrów czynnościowych odbywała się podczas spokojnego oddechu dziecka w pozycji siedzącej, z klipsem założonym na nos. Rejestrowano następujące parametry czynnościowe: opór przy częstotliwości 5Hz ( $R_{5\text{ Hz}}$ ), opór przy częstotliwości 20Hz ( $R_{20\text{ Hz}}$ ), różnica  $R_{5\text{ Hz}}$  i  $R_{20\text{ Hz}}$  ( $R_{5-20\text{ Hz}}$ ), reaktancja przy częstotliwości 5 Hz ( $X_{5\text{ Hz}}$ ), reaktancja przy częstotliwości 20 Hz ( $X_{20\text{ Hz}}$ ), pole powierzchni pod krzywą reaktancji (AX) oraz częstotliwość rezonansowa (Fres).

Badania spirometryczne wykonywano przy użyciu tego samego urządzenia. Każdą próbę oceniano pod kątem poprawności technicznej, stosując kryteria European Respiratory Society / American Thoracic Society. Ze względu na ograniczoną kooperację dzieci w grupie

badanej wynik uznawano za akceptowalny, jeśli jedna próba spełniała kryteria. Uzyskane wyniki czynnościowe przekształcono w *z-score* wykorzystując wartości referencyjne Global Lung Initiative.

## **Etyka**

Protokoły badań wchodzących w skład cyklu zostały zaaprobowane przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego (decyzja z dnia 17.06.2011, nr zgody: KBET/48/B/2011 oraz decyzja z dnia 27.06.2016, nr zgody: 122.6120.220). Rodzice/opiekunowie każdorazowo otrzymywali obszerną pisemną informację na temat udziału w badaniu. Rodzice/opiekunowie wszystkich dzieci włączonych do badania podpisali formularz świadomej zgody na udział w badaniu. Zostali również poinformowani o możliwości wycofania zgody na udział dziecka w badaniu na każdym jego etapie.

## **Podsumowanie wyników**

Poniżej podsumowano najważniejsze wyniki prezentowane w poszczególnych publikacjach

### **Artykuł nr 1 opublikowany w *ISRN Pediatrics***

W artykule przedstawiono przegląd piśmiennictwa dotyczącego roli EIT w ocenie czynności układu oddechowego u dzieci. EIT jest narzędziem umożliwiającym ciągłe, nieinwazyjne monitorowanie funkcji płuc. Metoda opiera się na pomiarze chwilowych zmian impedancji elektrycznej klatki piersiowej w czasie. Podczas badania na powierzchni klatki piersiowej umieszczony jest pas z elektrodami. Jedna z elektrod generuje prąd o dużej częstotliwości i małej amplitudzie, zaś za pomocą pozostałych dokonywany jest pomiar oporu elektrycznego (impedancji). Na podstawie uzyskanego odczytu dokonywana jest tomograficzna rekonstrukcja rozkładu impedancji elektrycznej w poszczególnych rejonach klatki piersiowej. Wykazano, że wartość impedancji elektrycznej jest wprostproporcjonalna do stopnia upowietrzenia badanego fragmentu płuc. Metoda umożliwia wnioskowanie dotyczące lokalnych zmian upowietrzenia tkanki płucnej w czasie. Niewątpliwą zaletą metody jest jej nieinwazyjność oraz niezależność od kooperacji, co umożliwia jej zastosowanie niemal w każdej grupie dzieci. Należy jednak podkreślić, że w celu jej rutynowego zastosowania niezbędna jest standaryzacja metodologii dokonywania pomiarów i raportowania wyników.

W pracy podsumowano wyniki dotychczas opublikowanych badań dotyczących zastosowania EIT w monitorowaniu czynności płuc u noworodków i dzieci podlegających wentylacji inwazyjnej i nieinwazyjnej. Przytoczono prace, pokazujące, że EIT może być przydatnym narzędziem w ocenie skuteczności leczenia surfaktantem, w ocenie zmian objętości oddechowej podczas odsysania dolnych dróg oddechowych, w diagnostyce odmy opłucnowej, czy w ocenie prawidłowości położenia rurki intubacyjnej. Może również stanowić

istotną pomoc w doborze najbardziej optymalnych dla pacjenta parametrów wsparcia oddechowego, jak wartość ciągłego dodatniego ciśnienia w drogach oddechowych (CPAP) czy dodatniego ciśnienia końcowowydechowego (PEEP) zapewniającego najbardziej homogenną wentylację. To z kolei może mieć wpływ na ograniczenie uszkodzenia płuc związanego z wentylacją mechaniczną. Wspomniano również o możliwości zastosowania EIT w monitorowaniu zmian perfuzji krążenia płucnego.

Powyższy przegląd piśmiennictwa stał się punktem wyjścia do podjęcia badań nad zastosowaniem metod opartych o ocenę zmian impedancji elektrycznej klatki piersiowej w monitorowaniu czynności układu oddechowego sponatnicznie oddychających dzieci urodzonych z VLBW. Wyniki tych badań zaprezentowano w artykułach 2. i 3.

### **Artykuł nr 2 opublikowany w *Pediatric Pulmonology***

W pracy podsumowano wyniki przekrojowej oceny 51 dzieci urodzonych z bardzo małą urodzeniową masą ciała w latach 2008-2010r. W badanej grupie u 33 dzieci postawiono rozpoznanie BPD opierając się na definicji zakładającej konieczność stosowania wsparcia oddechowego w 28. dobie życia. Spośród dzieci z BPD u 20 stwierdzono łagodną postać choroby, u 9 umiarkowaną, u 4 ciężką.

Wszystkie dzieci włączone do badania poddano badaniu ankietowemu oceniającemu częstość występowania objawów związanych z układem oddechowym. U dzieci z BPD stwierdzano istotnie statystycznie częstsze występowanie epizodów świstów wydechowych w porównaniu do dzieci urodzonych przedwcześnie bez BPD. Nie wykazano natomiast różnicy w zakresie częstości hospitalizacji z powodu zakażeń układu oddechowego ani częstości stosowania wziewnych glikokortykosteroidów.

Na podstawie rejestracji zapisu EIS stwierdzono, że jest to bezpieczna, nieinwazyjna metoda, której zastosowanie jest możliwe w grupie dzieci przedszkolnych charakteryzujących się ograniczoną kooperacją. U żadnego z badanych dzieci nie stwierdzono występowania działań niepożądanych związanych z prowadzonym badaniem, w tym zwłaszcza występowania lokalnego odczynu na skórze w miejscach, gdzie umieszczone były elektrody.

Przeanalizowano zapis EIS porównując podstawowe (przed podaniem salbutamolu) wartości mediany amplitudy wdechowo-wydechowej impedancji w poszczególnych segmentach klatki piersiowej oraz lokalnego współczynnika niehomogenności wentylacji (II) u dzieci z BPD oraz u dzieci bez BPD. W tym zakresie nie wykazano istotnych statystycznie różnic między badanymi grupami. Porównano również zmiany w wartościach impedancji elektrycznej klatki piersiowej zachodzące po podaniu wziewnym salbutamolu. Zaobserwowano, że u dzieci z BPD dochodzi do istotnego zwiększania się amplitudy wdechowo-wydechowej impedancji klatki piersiowej jak również współczynnika

niehomogenności wentylacji w segmentach niezależnych od grawitacji (górných). Podobnego zjawiska nie wykazano w grupie dzieci bez BPD. Powyższa obserwacja wskazuje na lokalny charakter zmian we wzorcu spontanicznej wentylacji u dzieci z BPD, w którym odpowiedź na  $\beta_2$ -mimetyk jest silniej wyrażona w częściach płuc niezależnych od grawitacji.

### **Artykuł nr 3 opublikowany w *Advances in Medical Sciences***

W publikacji przedstawiono wyniki przekrojowej analizy będącej kontynuacją badań omawianych w artykule nr 2. Do udziału w badaniu ankietowym oraz czynnościowej ocenie układu oddechowego zgłosiło się 40 dzieci biorących udział w poprzednim etapie oceny w wieku 4 lat. Do tej grupy dobrano pod względem wieku grupę kontrolną złożoną z 30 dzieci urodzonych w fizjologicznym terminie porodu rekrutowanych z populacji ogólnej dzieci uczęszczających do krakowskich szkół podstawowych.

W zakresie analizowanych główných punktów końcowých wykazano istotne różnice między grupą dzieci urodzonych przedwcześnie a grupą kontrolną. Stwierdzono częstsze występowanie nieprawidłowo zwiększonego oporu w układzie oddechowym ( $R_{5Hz}$ ), częstsze występowanie FEV1 poniżej dolnej granicy normy ( $z\text{-score} < -1,64$ ) oraz większą częstość istotnej odwracalności po  $\beta_2$ -mimetyku w zakresie całkowitego oporu oddechowego ( $R_{5Hz}$ ) jak i w zakresie oporu w małych drogach oddechowych ( $R_{5-20Hz}$ ) w grupie dzieci urodzonych przedwcześnie w porównaniu do grupy kontrolnej.

Na podstawie oceny kwestionariuszowej stwierdzono występowanie istotnych różnic między dziećmi z BPD a grupą kontrolną. W grupie dzieci z BPD zaobserwowano istotnie częstsze występowanie epizodów świstów, w tym również związanych z wysiłkiem fizycznym oraz częstsze występowanie astmy oskrzelowej. Nie stwierdzono natomiast różnic w zakresie tych punktów pomiędzy dziećmi urodzonymi przedwcześnie bez BPD a grupą kontrolną.

Porównując wyniki podstawowych badań czynnościowych (przed  $\beta_2$ -mimetykiem) stwierdzono różnice pomiędzy dziećmi z BPD a grupą kontrolną. Wykazano istotnie statystycznie większą wartość średnią całkowitego oporu oddechowego ( $R_{5Hz}$ ) oraz oporu małych dróg oddechowych ( $R_{5-20Hz}$ ) u dzieci z BPD. Wartości średnie oporu w dużych drogach oddechowych były większe zarówno u dzieci z BPD jak i u dzieci bez BPD, w porównaniu do dzieci z grupy kontrolnej. Ponadto wykazano większą średnią wartość  $F_{res}$ , jak również  $AX$  w grupie dzieci z BPD w porównaniu do grupy kontrolnej, co może wskazywać na zmienione właściwości elastyczne tkanki płucnej. Ze względu na mały odsetek poprawnych technicznie badań spirometrycznych nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w wartościach  $z\text{-score}$  dla FEV1 oraz natężonej pojemności życiowej (*Forced Vital Capacity* - FVC) pomiędzy badanymi grupami. Następnie przeanalizowano parametry czynnościowe po podaniu salbutamolu. W grupie dzieci urodzonych przedwcześnie stwierdzono istotnie większą

redukcję całkowitego oporu oddechowego (% zmiany  $R_{5\text{Hz}}$ ) oraz oporu małych dróg oddechowych (% zmiany  $R_{5-20\text{Hz}}$ ) w porównaniu do grupy kontrolnej.

Zestawiono również parametry uzyskane w badanej grupie dzieci urodzonych przedwcześnie w wieku 4 lat za pomocą EIS z parametrami czynnościowymi zarejestrowanymi w wieku 7 lat za pomocą IOS oraz spirometrii. W grupie dzieci z BPD stwierdzono istotną statystycznie korelację pomiędzy odpowiedzią na  $\beta_2$ -mimetyk (różnica mediany amplitudy impedancji elektrycznej w segmentach górnych klatki piersiowej) a całkowitym oporem oddechowym ( $R_{5\text{Hz}}$ ). Nie wykazano natomiast korelacji pomiędzy parametrami świadczącymi o odpowiedzi na  $\beta_2$ -mimetyk rejestrowanymi w obydwu punktach czasowych (zmiana amplitudy wdechowo-wydechowej impedancji elektrycznej klatki piersiowej dla EIS, % zmiany  $R_{5\text{ Hz}}$  dla IOS).

## **Wnioski**

W powyższych badaniach wykazano, że EIS jest bezpieczną, nieinwazyjną metodą monitorowania układu oddechowego, która może być stosowana u spontanicznie oddychających dzieci przedszkolnych urodzonych z VLBW. Wymaga ona od dziecka jedynie niewielkiej kooperacji, co pozwala na jej wykorzystanie u dzieci, u których występują trudności z prawidłowym wykonaniem manewrów oddechowych podczas badań takich jak Rint czy IOS. Jednocześnie brak standaryzacji oraz prac porównujących jednocześnie tę metodę z innymi metodami czynnościowej oceny układu oddechowego ograniczają możliwość jej szerokiego zastosowania w praktyce klinicznej w chwili obecnej.

Przy pomocy EIS stwierdzono, że u dzieci przedszkolnych z BPD występuje swoisty wzorec odpowiedzi na  $\beta_2$ -mimetyk. Dochodzi u nich do zwiększenia amplitudy wdechowo-wydechowej impedancji w górnych segmentach płuc, czego nie zaobserwowano u dzieci bez BPD. Zaobserwowano ponadto korelację między odpowiedzią na  $\beta_2$ -mimetyk w wieku 4 lat a całkowitym oporem oddechowym w wieku 7 lat.

Opisywane badania stanowią element wieloletniej, ciągłej obserwacji przebiegu powikłań związanych z układem oddechowym w kohorcie dzieci urodzonych z VLBW. W badanej grupie, zarówno w wieku 4 lat, jak i w wieku 7 lat stwierdzano dużą częstość objawów związanych z układem oddechowym. W obydwu punktach czasowych zaobserwowano, że objawy te występują częściej u dzieci z BPD w porównaniu do dzieci bez BPD. Ponadto w tej grupie dzieci istotnie częściej stwierdzono nieprawidłowe wyniki badań czynnościowych układu oddechowego w wieku 7 lat. Powyższe obserwacje wskazują na przewlekły charakter uszkodzenia układu oddechowego w wtej grupie dzieci.

Do analizy w wieku 7 lat włączono grupę kontrolną złożoną z dzieci urodzonych w fizjologicznym terminie porodu. Zaobserwowano, że dzieci urodzone z VLBW u których nie

dochodzi do rozwoju BPD charakteryzują się podobną częstością występowania przewlekłych objawów oddechowych i rozpoznania astmy oskrzelowej jak populacja dzieci urodzonych w fizjologicznym terminie porodu.

W dostępnym piśmiennictwie można odnaleźć jedynie nieliczne prace, w których oceniano wpływ wcześniactwa na stan układu oddechowego w późniejszych latach życia w grupie polskich dzieci.<sup>8,34</sup> W żadnej z dotychczas publikowanych prac nie oceniano tej samej grupy dzieci więcej niż jednokrotnie.



## **Streszczenie pracy w języku angielskim**

### **Introduction**

The progress of neonatal care in recent years has contributed to the shifting of the survival limit of newborns born with extremely low birth weight (ELBW). At the same time, long-term complications of prematurity significantly affect the quality of life and the incidence of chronic diseases in later life. Large cohort studies have shown that respiratory complications contribute to increased mortality in prematurely born adults even at 30-45 years of age.<sup>35</sup> BPD is the most common long-term respiratory complication of premature birth.<sup>36</sup>

Long-term observational studies demonstrate a significant effect of BPD on the structure and function of the respiratory system.<sup>3</sup> A higher incidence of asthma-like symptoms has been shown in preschool and school age children with BPD.<sup>36</sup> Cough, lower airway obstruction, bronchial hyperresponsiveness, as well as symptoms associated with exercise intolerance, are common in this group of children.<sup>17,37,38</sup> Indicators of respiratory function, such as forced expiratory volume in one second (FEV1), have also been found to be persistently reduced compared to children born at term.<sup>39</sup> Permanent restrictive abnormalities related to alveolarization disturbances, leading to a reduced diffusion capacity, have also been described.

This data indicates the chronic nature of damage to the respiratory system associated with preterm birth. This damage is found in both the airways and the lung parenchyma and affects the quality of life in later years.

It should be emphasized that strict monitoring of pulmonary function with objective methods encounters significant difficulties, especially in the group of preschool and early school children. These difficulties are related to the limited cooperation and the lack of standardized methods for the assessment of pulmonary function.

### **Research Purpose, research problems**

The main objectives of the research were: to find new methods of assessing respiratory function in preschool children with limited cooperation and a cross-sectional assessment of long-term adverse effects related to the respiratory system in children born with very low birth weight (VLBW).

The following issues were analyzed in detail:

1. Assessment of the feasibility of using thoracic electrical impedance segmentography (EIS) to evaluate the function of the respiratory system in children born with VLBW at the age of 4

2. Evaluation of the ventilation pattern in spontaneously breathing VLBW children at 4 years of age using EIS
3. Cross-sectional assessment of complications related to the respiratory system and pulmonary function testing using both impulse oscillometry (IOS) and spirometry in the same group of children at 7 years of age
4. Analysis of the course of complications related to the respiratory system over time by comparing the results obtained at the age of 4 and 7 in the same cohort of children

## **Material**

### **Material (applies to articles No 2 and No 3)**

These two studies assessed long-term effects related to the respiratory system in the group of children born with VLBW between October 2008 and November 2010. All children included in the study were hospitalized postnatally at the Neonatal Intensive Care Unit of the University Children's Hospital in Krakow. Clinical course data was prospectively recorded during hospitalization. The following inclusion criteria were used: birth weight  $\leq 1500$  g and gestational age at birth  $\leq 32$  weeks. The presence of multiple congenital anomalies was the exclusion criterion from the study. Respiratory function was assessed twice in the same group of children, at the age of 4 and then at the age of 7.

## **Methods**

### **Methods (applies to article No 2)**

All children included in the study were subjected to a questionnaire assessment of respiratory symptoms during a single visit. Then, each child underwent a thoracic Electrical Impedance Segmentography (EIS) recording. EIS was performed during tidal breathing in an upright position. Following the baseline recording, each study subject received 400  $\mu$ g of salbutamol using a pressurized metered dose inhaler (pMDI) with a spacer. After 15 minutes, EIS was recorded again.

EIS is a non-invasive method that allows observing local changes in lung aeration in real-time. The general principle of EIS, similarly to EIT, is to measure changes in electrical resistance. 10 electrodes are placed on the skin of the chest during monitoring - two central ones at the front and back, and 4 pairs of electrodes located at the front and back of the chest in the upper right, upper left, lower right, lower left segments. Short-term variability of the thoracic electrical resistance during the respiratory cycle, as well as the long-term changes at two time points in the same patient, can be assessed with this method. Our analysis included median values of the inspiratory-expiratory electrical impedance amplitude in individual segments and the segmental inhomogeneity index (II) calculated based on local short-term

amplitude variability. Changes in these parameters after administration of the  $\beta_2$ -agonist were assessed.

### **Methods (applies to article No 3)**

During one outpatient visit, all children included in the study underwent a questionnaire assessment of respiratory symptoms including the incidence of bronchial asthma, recurrent respiratory infections, and administration of inhaled medications. Two methods were used for pulmonary function assessment: impulse oscillometry (IOS) and spirometry. The functional parameters were recorded twice: before and 15 minutes after administration of 400  $\mu\text{g}$  of salbutamol using a pMDI with a spacer.

IOS testing was performed using a Jaeger MasterScreen spirometer (Carefusion Technologies, San Diego California, USA). The functional parameters were registered during tidal breathing in an upright position with a nose clip. The following functional parameters were recorded: resistance at 5 Hz (R5 Hz), resistance at 20 Hz (R20 Hz), frequency dependence of resistance (R5-20 Hz), reactance at 5 Hz (X5 Hz), reactance at 20 Hz (X20 Hz), area of reactance (AX) and resonant frequency (Fres).

Spirometry was performed using the same device. Each trial was assessed for technical validity using the criteria of the European Respiratory Society / American Thoracic Society. Due to the limited cooperation of children in the study group, the result was considered acceptable if one trial met the criteria. Obtained results were converted into *z-scores* using the Global Lung Initiative reference values.

### **Ethics**

The research protocols included in this thesis have been approved by the Bioethics Committee of the Jagiellonian University (decision of June 17, 2011, consent number: KBET/48/B/2011 and decision of June 27, 2016, consent number: 122.6120.220). Parents/guardians received extensive written information about their child's participation in the study. Parents/guardians of all children included in the study signed an informed consent form to participate in the study. They were also informed about the possibility of withdrawing their consent at any time.

### **Summary of the results**

The most important results presented in individual publications are summarized below

### **Article No 1 published by ISRN Pediatrics**

The article presents a review of the literature on the role of EIT in assessing respiratory function in children. EIT is a tool that enables continuous, non-invasive monitoring of lung function. The method is based on measuring short-term changes in the thoracic electrical impedance over time. During the examination, a belt with electrodes is placed on the surface of the chest. One of the electrodes generates a high frequency and low amplitude current, while the other electrodes measure the electrical resistance (impedance). Based on the obtained reading, tomographic reconstruction of the electrical impedance distribution in individual regions of the chest is performed. It has been shown that electrical impedance is directly proportional to the degree of aeration of the examined lung fragment. This method makes it possible to assess local changes in lung tissue aeration over time. The undoubted advantages of this method are its non-invasive nature and independence from cooperation, which allows its use in almost every group of children. However, it should be emphasized that standardization of measurement methodology and reporting of results are necessary for its routine application.

This paper summarizes the results of previously published studies on the use of EIT in the monitoring of lung function in neonates and children undergoing invasive and non-invasive ventilation. Studies demonstrating that the EIT may be a useful tool in assessing the effectiveness of surfactant treatment, changes in tidal volume during suctioning of the lower airways, correct position of the endotracheal tube, and in diagnosing pneumothorax are mentioned. It can also be helpful in selecting the most optimal respiratory support parameters for the patient, such as continuous positive airway pressure (CPAP) or positive end expiratory pressure (PEEP), ensuring the most homogeneous ventilation. This, in turn, may have the effect of reducing lung injury associated with mechanical ventilation. The possibility of using EIT in monitoring changes in pulmonary perfusion is also mentioned.

This literature review became the starting point for research on the use of methods utilizing assessment of the thoracic electrical impedance changes in the monitoring of the respiratory function of spontaneously breathing children born with VLBW. The results of these studies are presented in Articles 2 and 3.

### **Article No 2 published in Pediatric Pulmonology**

This paper summarizes the results of a cross-sectional assessment of 51 children born with VLBW in 2008-2010. In the study group, 33 children were diagnosed with BPD. A definition based on the need for respiratory support on the 28th day of life was utilized. Out of all children with BPD, 20 had mild disease, 9 had moderate disease, and 4 had severe disease.

All children included in the study underwent a questionnaire survey assessing symptoms related to the respiratory system. Episodes of expiratory wheezing were statistically significantly more common in children with BPD compared to children born prematurely

without BPD. However, there was no difference in hospitalization rate due to respiratory tract infections or the use of inhaled glucocorticosteroids.

This study demonstrates that thoracic EIS is a safe, non-invasive method that can be used in preschool children with limited cooperation. None of the examined children presented with any adverse effects related to EIS monitoring. In particular, no local skin reactions on the chest surface after electrode placement were observed.

Thoracic EIS reading was analyzed by comparing basic (before salbutamol administration) values of the median inspiratory-expiratory impedance amplitude in individual thoracic segments and the local  $\text{II}$  in children with and without BPD. In this range, no statistically significant differences were found between the studied groups. Changes in the electrical impedance of the chest after administration of salbutamol were also compared. A significant increase in the amplitude of inspiratory-expiratory thoracic impedance as well as the  $\text{II}$  in the gravity-independent (upper) segments was observed in children with BPD. A similar phenomenon was not demonstrated in children without BPD. This observation indicates the local nature of changes in the pattern of spontaneous ventilation in children with BPD, in which the response to  $\beta_2$ -agonist is more noticeable in gravity non-dependent lung regions.

### **Article No 3 published in Advances in Medical Sciences**

This publication presents the results of a cross-sectional analysis which is a continuation of research discussed in article 2. 40 children participating in the previous stage of the assessment at the age of 4, were enrolled in the current study which included a questionnaire and pulmonary function assessment. An age-appropriate control group of 30 children born at term, recruited from the general population of children attending primary schools in Kraków, were included in the study.

In terms of the main endpoints analyzed, significant differences were found between the group of prematurely born children and the control group. Abnormally elevated respiratory resistance ( $R_{5\text{Hz}}$ ), FEV1 below the lower limit of normal ( $z\text{-score} < -1.64$ ), and a significant bronchodilator response after a  $\beta_2$ -agonist assessed with total respiratory resistance ( $R_{5\text{Hz}}$ ) and resistance in small airways ( $R_{5-20\text{Hz}}$ ) were all more common in prematurely born children compared to the control group.

Based on the questionnaire assessment, significant differences were found between children with BPD and the control group. Children with BPD presented more frequently with expiratory wheezing episodes including those related to exercise intolerance, as well as a

higher prevalence of asthma. However, no differences in these points were found between children born prematurely without BPD and the control group.

The results of baseline pulmonary function tests (before  $\beta_2$ -agonist) revealed differences between children with BPD and the control group. A statistically significantly higher mean value of total respiratory resistance (R5Hz) and resistance of small airways (R5-20Hz) was detected in children with BPD. The mean values of large airway resistance were higher in both children with BPD and those without BPD compared to the control group. Moreover, a higher mean value of  $F_{res}$ , as well as AX, was demonstrated in children with BPD compared to the control group. This may indicate altered elastic properties of lung tissue. Due to the small percentage of technically acceptable spirometry results, no statistically significant difference was found in *z-score* values for FEV1 and forced vital capacity (FVC) between the studied groups. Pulmonary functional parameters after administration of salbutamol were also analyzed. A statistically significantly greater reduction in total respiratory resistance (% change in R5Hz) and small airway resistance (% change in R5-20Hz) was observed in prematurely born children compared to the control group.

We compared results recorded at the age of 4 using EIS with the pulmonary function test results obtained using IOS and spirometry at the age of 7. A statistically significant correlation between the bronchodilator response (the difference in the median amplitude of electrical impedance in the upper thoracic segments) and total respiratory resistance (R5Hz) was observed in children with BPD. However, we found no correlation between bronchodilator response recorded at both time points (change in the inspiratory-expiratory amplitude of electrical chest impedance for EIS and % change in R5 Hz for IOS).

## **Conclusions**

In these studies, EIS has proven to be a safe, non-invasive respiratory monitoring method that can be used in spontaneously breathing VLBW preschool children. It requires only a minimal level of cooperation, which enables its use in children who have difficulties performing respiratory maneuvers during tests such as Rint or IOS. At the same time, the lack of standardization and studies comparing this method with other methods of pulmonary function assessment limit the possibility of its wide application in clinical practice at present.

Using the EIS, it was found that preschool children with BPD present with a specific response pattern to  $\beta_2$ -agonist. They demonstrate an increase in the inspiratory-expiratory impedance amplitude in the upper segments of the lungs, which has not been observed in children without BPD. We also observed a correlation between the response to  $\beta_2$  agonists at 4 years of age and total respiratory resistance at 7 years of age.

These studies are part of the longitudinal continuous follow-up of complications related to the respiratory system in a cohort of children born with VLBW. Prevalence of symptoms related to the respiratory system was high at both 4 and 7 years of age. At both time points, these symptoms were more common in children with BPD compared to children without BPD. In addition abnormal results of pulmonary function tests were significantly more common in children with BPD at the age of 7. These observations indicate the chronic nature of injury to the respiratory system in this group of children.

At the age of 7, a control group consisting of children born at term was included in the analysis. Children born with VLBW who do not develop BPD have a similar prevalence of chronic respiratory symptoms and asthma as the population of children born at term.

The available literature includes only a few studies assessing the impact of prematurity on the condition of the respiratory system in the later years of life in a group of Polish children.<sup>8,34</sup> None of the papers published so far included a longitudinal assessment of the same group of children on more than one