

**Univerzita Karlova  
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Změny kostního a minerálového metabolismu a role vitamínu D u novorozenců  
s velmi a extrémně nízkou porodní hmotností**

**Tomáš Matějka**

**Autoreferát disertační práce**

**Doktorský studijní program *Pediatric***

**Hradec Králové**

**2020**

Disertační práce byla vypracována v rámci *kombinovaného* studia doktorského studijního programu Pediatrie na Dětské klinice Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Tomáš Matějek  
Dětská klinika  
Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: doc. MUDr. Sylva Skálová, Ph.D.  
Dětská klinika  
Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel konzultant: prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., dr.h.c.  
Ústav klinické biochemie a diagnostiky  
Lékařská fakulta v Hradci Králové Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Oponenti: prof. MUDr. Zdeněk Šumník, Ph.D.  
Pediatrická klinika 2. LF a FN Motol, Praha

doc. MUDr. Štěpán Kutílek, CSc.  
Dětské oddělení, Klatovská nemocnice, a.s.

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR ..... dne .....  
v ..... od ..... hod.  
(bude doplněno po vyhlášení termínu, místa a času)

Tato práce vznikla za podpory grantu Fakultní nemocnice Hradec Králové, projekt České republiky MH CZ - DRO (UHHK, 00179906). Studie byla dále podpořena specifickým univerzitním výzkumným programem (SVV 260396) z Univerzity Karlovy, Lékařská fakulta v Hradci Králové.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové (tel. 495 816 134).

doc. MUDr. Sylva Skálová, Ph.D.  
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací v doktorském studijním programu Pediatrie.  
Garant studijního programu.

# 1. Obsah

1. Obsah.....	1
2. Souhrn .....	1
3. Summary .....	2
4. Úvod do problematiky.....	3
5. Cíle disertační práce .....	4
6. Metody a soubor nemocných .....	5
6.1 Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie.....	5
6.1.1 Soubor pacientů.....	5
6.1.2. Protokol studie.....	5
6.1.3. Statistické hodnocení.....	6
6.2 Prospektivní observační kohortová studie .....	6
6.2.1. Soubor pacientů.....	6
6.2.1.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D.....	7
6.2.1.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časně morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.....	7
6.2.2. Protokol studie.....	7
6.2.3. Sledované laboratorní a klinické charakteristiky .....	8
6.2.4. Statistické hodnocení.....	8
7. Výsledky.....	9
<b>7.1 Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie</b>	
9	
<b>7.1.1. Parathormon .....</b>	<b>9</b>

<b>7.1.2. Vztah mezi parathormonem a ostatními markery kostního metabolismu</b> .....	9
7.2 Výsledky prospektivní observační kohortové studie .....	11
7.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D. ....	11
<b>7.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.</b> .....	13
8. Diskuse .....	19
8.1. Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie.....	19
8.2 Diskuze - Prospektivní observační kohortové studie .....	20
8.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D. ....	20
8.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí. ....	21
9. Závěry.....	24
9.1. Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie.....	24
9.2. Prospektivní observační kohortové studie .....	24
9.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D. ....	24
9.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí. ....	25

10.	Použitá literatura .....	25
11.	Přehled činnosti autora .....	29

## 2. Souhrn

Disertační práce má několik stanovených cílů. Za prvé odhadnout fyziologické hladiny parathormonu u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Za druhé zhodnotit stav zásobení vitamínem D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození a při propuštění z nemocnice. Za třetí porovnat parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné nemocnosti ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti s hladinami 25-hydroxy vitamin D [25(OH)D] v pupečnickové krvi  $\leq 25$  nmol/l a  $> 25$  nmol/l. A za čtvrté posoudit, zda je deficit vitamínu D v pupečnickové krvi rizikovým faktorem pro rozvoj syndromu dechové tísně novorozence.

Jedná se o soubor prospektivních observačních studií zahrnující nezralé novorozence s porodní hmotností pod 1500 g. Parametry minerálového a kostního metabolismu byly analyzovány z pupečnickové krve, séra a moče novorozenců v průběhu hospitalizace (parathormon, 25OHD, S-Ca, S-P, ALP, U-Ca, U-P) a ze séra těhotných žen těsně před porodem [25(OH)D]. Kostní mineralizace byla hodnocena pomocí kostní denzitometrie.

Fyziologické rozmezí hladin PTH u předčasně narozených novorozenců bylo odhadnuto jako 1.6 – 9.3 pmol/l. Od druhého měsíce života byla prokázána statisticky významná korelace mezi PTH a 25(OH)D ( $Rho = -0.71$ ,  $p = <0.0001$ ). Hladina 25(OH)D byla  $< 50$  nmol / l u 71.3 % matek, v 91.5 % vzorků pupečnickové krve ( $n = 94$ ) a téměř u 60 % předčasně narozených novorozenců při propuštění z nemocnice (tj. po 8 týdnech suplementace vitamínem D). Parametry minerálového a kostního metabolismu včetně kostní denzitometrie a výskyt sledované morbidity byly u novorozenců v obou skupinách [skupina A ( $n = 31$ ): 25(OH)D  $\leq 25$  nmol / l a skupina B ( $n = 38$ ): 25(OH)D  $> 25$  nmol / l] srovnatelné. Dále bylo zjištěno, že nízká hladina vitamínu D z pupečnickové krve nevede k vyššímu nebo nižšímu riziku RDS.

Fyziologické rozmezí pro sérové hladiny PTH u nedonošených novorozenců jsou velmi blízké referenčním limitům pro dospělé (1 – 7 pmol/l). Hladina PTH nad tímto rozmezím může být považována za hyperparatyreózu i u předčasně narozených novorozenců. Vzhledem k velmi vysoké prevalenci deficiencie vitamínu D u matek nebyla v našem souboru nezralých novorozenců aktuálně doporučovaná dávka vitamínu D (800 IU denně) schopna zvýšit hladiny vitamínu D nad 50 nmol/l před propuštěním z nemocnice. Porovnáním skupin nezralých novorozenců s hladinou vitamínu D  $\leq$  a  $> 25$  nmol/l jsme neprokázali žádný benefit plynoucí z pupečnickové hladiny vitamínu D  $> 25$  nmol/l.

### 3. Summary

#### **Changes in Bone and Mineral Metabolism and the Role of Vitamin D in Very Low Birth Weight Infants.**

Firstly, the aim of dissertation work was to estimate physiological parathyroid hormone (PTH) levels and their relationship with bone metabolism parameters in otherwise healthy preterm newborns with birth weight 1000-1500 g. Secondly, to evaluate vitamin D status in mothers and their very low birth weight infants (VLBW) at birth and at discharge with currently recommended supplementation of vitamin D. Thirdly, to compare clinical outcomes of VLBW infants with 25-hydroxy vitamin D [25(OH)D] levels  $\leq$  and  $>$  25 nmol/l in umbilical cord blood and finally to evaluate umbilical cord vitamin D as a risk factor for respiratory distress syndrome in preterm infants.

It is a set of prospective observational studies involving immature newborns with birth weight below 1500 g. The parameters of mineral and bone metabolism were analysed in umbilical cord blood and newborn serum and urine during hospitalisation (PTH, 25-hydroxy vitamin D, S-Ca, S-P, ALP, U-Ca, U-P) and in pregnant women before delivery (25-hydroxy vitamin D). Bone mineralization was evaluated by bone densitometry.

In a pilot study, from the total 134 examined serum samples for PTH levels the estimated reference range was 1.6 – 9.3 pmol/l. From the second month of life there was a statistically significant relationship only between PTH and 25(OH)D (Rho = -0.71,  $p = < 0.0001$ ). Serum 25(OH)D was  $<$  50 nmol/L in 71.3 % of mothers, in 91.5 % of cord blood samples, and in almost 60 % of preterm newborns at discharge (after 8 weeks of supplementation). The laboratory findings and the subsequent clinical outcomes (including bone densitometry) were comparable (non-significant difference) in infants in both groups [Group A: 25(OH)D  $\leq$  25 nmol/l and Group B: 25(OH)D  $>$  25 nmol/l]. In addition, we found in this study that umbilical cord vitamin D level does not lead to higher or lower risk of RDS.

The physiological range indicated by the measurements was close to the reference limits for adults (1.6 – 9.3 pmol/l). PTH level above this range can be considered as hyperparathyreosis in preterm neonates. In our prospective cohort study we found out that due to very high prevalence of 25(OH)D deficiency among mothers, the current, generally recommended dose of vitamin D (800 IU per day) for VLBW infants was unable to improve vitamin D levels above the desired 50 nmol/L before discharge. We compared groups of preterm newborns with vitamin D  $\leq$  and  $>$  25 nmol / l and we didn't find any benefit from umbilical cord vitamin D level  $>$  25 nmol / l.

## 4. Úvod do problematiky

Přes úspěchy neonatální intenzivní péče za posledních 20 let se incidence metabolického kostního onemocnění (MBD) nezralých novorozenců nezměnila (30-50 %) (1). Patofyziologie rozvoje MBD je multifaktoriální – ztráta fetální akrece Ca a P, remodelace nezralé kosti, nedostatečná minerálová suplementace a porucha tvorby kostní matrice. Na základě mnoha studií se ukazuje, že žádný z běžně používaných parametrů kostního metabolismu nelze použít jako zlatý standard pro včasnou diagnostiku MBD u předčasně narozených dětí (1). V poslední době některé studie poukázaly na vztah mezi sekundární hyperparatyreózou a MBD předčasně narozených dětí, zejména v kategorii novorozenců s nejnižší hmotností a s mnohočetnou morbiditou (1). Vzhledem k tomu, že referenční hodnoty pro nezralé novorozence nejsou známy, lze spekulovat o tom, že zvýšené hladiny parathormonu (PTH) u předčasně narozených novorozenců mohou být výsledkem jejich adaptačních postnatálních procesů. Nezralí novorozenci jsou vzhledem k časté hypovitaminóze D u matek náchylní k rozvoji deficitu vitamínu D a tím jsou ohroženi rozvojem řady akutních onemocnění souvisejících zejména s respiračním a imunitním systémem. Hypovitaminóza D patří také do rizikových faktorů rozvoje MBD při nezralosti (vede k sekundární hyperparathyreóze). Mezi dlouhodobé následky MBD u nezralých novorozenců řadíme redukci finální tělesné výšky a vrcholové kostní hmoty s možným dopadem na časný rozvoj osteoporózy dospělých (1).

V posledních letech se objevila řada studií poukazujících na deficientní (pod 50 nmol/l) až těžce deficientní (pod 25 nmol/l) hladiny 25(OH)D u těhotných žen a jejich donošených i nedonošených novorozenců (2-6). Současně bylo zjištěno, že tyto hladiny spolu korelují. Hladina 25(OH)D u donošeného novorozence obvykle dosahuje 70-100 % hladiny matky (5, 7). Globální prevalence sérové hladiny 25(OH)D < 50 nmol/l se u těhotných žen pohybuje kolem 50 % a u novorozenců kolem 75 %. Těžká deficiencie vitamínu D (< 25 nmol/l) byla zachycena u přibližně 20 % těhotných žen a 30 % novorozenců (8).

Vitamin D je v tucích rozpustný vitamin, který se podílí na mnoha fyziologických procesech. Přestože hlavní funkcí je jeho úloha v metabolismu kostí, v posledních letech přitahují pozornost i jeho další biologické účinky, zejména ty imunomodulační. Klinický výzkum na poli vitamínu D byl eskalován objevem, že mnoho typů lidských buněk nese receptor pro vitamin D a ten může hrát roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciaci (9). Hypovitaminóza D u matek během těhotenství a následná nedostatečná hladina v pupečnickové krvi novorozenců je spojována s možným rozvojem následujících chorob: diabetes mellitus I.



typu v dětském věku (10), alergie (11), vyšší riziko infekcí horních a dolních cest dýchacích, bronchiolitidy způsobené respiračním syncytiálním virem (RSV), opakující se pískání, bronchiální astma ve věku 6 let (12-14), neurokognitivní vývojové poruchy (poruchy řeči, poruchy autistického spektra v časném dětství) (15-17) a snížená kostní hmota u dětí a mladých dospělých s následným rizikem vzniku časně osteoporózy (18, 19). Existují přesvědčivé důkazy, že nízká hladina vitamínu D vede u novorozenců k poruše funkce imunitního systému (20-23). Mechanismus, kterým vitamin D ovlivňuje imunitu, je složitý proces rozebraný v samostatné kapitole (viz 3.5.2). Novorozenci s velmi nízkou porodní hmotností jsou taktéž významně ohroženi nízkou sérovou hladinou vitamínu D z důvodu vysoké prevalence deficiencie vitamínu D v těhotenství, nedostatečné expozice slunečnímu záření během hospitalizace, minimálního množství tukové tkáně (v níž jsou vitamin D a jeho metabolity skladovány) a díky problémům s dosažením adekvátní enterální výživy (24). Na základě několika studií se zdá, že vhodná koncentrace vitamínu D je prospěšná pro prenatální vývoj plic. Nedostatek vitamínu D je dáván do souvislosti s vyšším rizikem syndromu dechové tísně (RDS) a bronchopulmonální dysplázie (BPD) (25-28). Nezralí novorozenci jsou vzhledem k časté hypovitaminóze D u matek náchylní k rozvoji deficitu vitamínu D. Dopad nízkých hladin vitamínu D na časnou a pozdní morbiditu nezralých novorozenců by měl být předmětem dalších studií.

Kombinace celosvětově prokázané vysoké prevalence deficiencie vitamínu D a asociace nízkých hladin vitamínu D s řadou onemocnění prezentujících se od útlého věku by měla vést k zamýšlení nad adekvátností současně používaných norem pro hodnocení zásob vitamínu D a s tím souvisejícího doporučení pro suplementaci vitamínem D, jak pro novorozence a děti, tak pro těhotné ženy.

## **5. Cíle disertační práce**

### **1) Cíle pilotní studie:**

Odhadnout fyziologické hladiny parathormonu u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti bez závažné morbiditativy a posoudit vztah mezi PTH a 25(OH)D, celkovým sérovým vápníkem, sérovým fosforem a alkalickou fosfatázou.

### **2) Cíle prospektivní observační kohortové studie:**

- a) Zhodnotit stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D Evropskou společností pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu.
- b) Porovnat laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časně nemocnosti ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti s hladinami 25(OH)D v pupečnickové krvi  $\leq 25$  nmol/l ve srovnání se skupinou novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti s hladinami 25(OH)D v pupečnickové krvi  $> 25$  nmol/l.
- c) Zhodnotit, zda je vitamin D v pupečnickové krvi rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.

## **6. Metody a soubor nemocných**

### **6.1 Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie**

#### **6.1.1 Soubor pacientů**

Klinická studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové (referenční číslo 2013010 S11P). Jednalo se o prospektivní observační studii v Perinatologickém centru Fakultní nemocnice Hradec Králové, která zahrnovala novorozence s porodní hmotností 1000 až 1500 g narozených ve 27. až 31. gestačním týdnu, v období od listopadu 2013 do září 2014. Rodiče podepsali informovaný souhlas před zařazením jejich dítěte do studie. Do studie byli zahrnuti předčasně narození novorozenci bez jiné závažné novorozenecké komorbiditity. Vylučovacími kritérii byly vrozené vývojové vady, intrauterinní růstová restrikce, intraventrikulární krvácení stupně III a IV dle Volpeho klasifikace (29), periventrikulární leukomalacie, bronchopulmonální dysplázie středního a těžkého stupně dle Jobeho klasifikace (30), nekrotizující enterokolitida klasifikována dle Bellovy stupnice (31), sepse s multiorgánovou dysfunkcí a novorozenci, kteří zemřeli během hospitalizace.

#### **6.1.2. Protokol studie**

Vzorky krve byly získávány přednostně z pupečního provazce při narození. Pouze v případě nedostupnosti pupečnickové krve byla při příjmu na novorozeneckou jednotku

intenzivní péče odebrána krev přímo novorozenci. Krev byla analyzována na hladiny PTH a 25(OH)D. PTH, 25(OH)D, S-Ca, S-P a ALP byly měřeny jedenkrát týdně až do 36. týdne těhotenství. Odběry krve byly prováděny mezi 7. a 8. hodinou ranní. Krev byla odebrána do standardní zkumavky a centrifugována nejpozději do 30 minut. Po oddělení séra byly okamžitě stanoveny hladiny S-Ca, S-P, ALP a PTH. Druhá část séra byla ihned zmrazena na teplotu -80 °C a skladována do definitivní analýzy 25(OH)D. S-Ca, S-P a ALP byly měřeny systémem Cobas 8000, Roche, Basilej, Švýcarsko. Parathormon byl analyzován chemoluminiscenčním testem na Liaison XL (DiaSorin Deutschland GmbH, Dietzenbach, Německo) určeným pro kvantitativní stanovení 1-84 PTH s vyloučením zkřížené reakce s 7-84 PTH fragmentem obsaženým v lidském séru. 25(OH)D byl stanoven pomocí izotopové diluční kapalinové chromatografie - tandemové hmotnostní spektrometrie ID-LC MS/MS. Pro účely této studie jsme definovali celkový 25(OH)D jako součet 25(OH)D<sub>2</sub> a 25(OH)D<sub>3</sub> bez C3 epimerů 25(OH)D<sub>2,3</sub>. Parenterální a enterální výživa sledovaných novorozenců byla vedena podle nutričního protokolu, který byl sestaven dle aktuálních výživových doporučení pro předčasně narozené novorozence (24, 32, 33).

### **6.1.3. Statistické hodnocení**

Pro zhodnocení demografických a klinických charakteristik předčasně narozených novorozenců byla použity metody deskriptivní statistiky. Všechny hodnoty minerálů v séru a moči, ALP, PTH a 25(OH)D jsou vyjádřeny jako medián a mezikvartilové rozmezí (IQR). K posouzení vztahu mezi PTH a dalšími laboratorními parametry kostního metabolismu byl použit Spearmanův korelační test. Hladina významnosti byla stanovena na  $\alpha = 0.05$ .

## **6.2 Prospektivní observační kohortová studie**

### **6.2.1. Soubor pacientů**

Studie byla schválena Etickou komisí Fakultní nemocnice Hradec Králové (referenční číslo 201510 S14P). Studie probíhala v perinatologickém centru Fakultní nemocnice Hradec Králové a zahrnovala všechny novorozence s porodní hmotností do 1500 g přijaté na jednotku intenzivní a resuscitační péče pro novorozence v období od ledna 2015 do prosince 2016. Od všech těhotných žen před hrozícím předčasným porodem byl získán informovaný písemný souhlas a poté rodiče podepsali informovaný souhlas před zařazením novorozence do studie. Informace o prenatální suplementaci vitamínu D matkám předčasně narozených novorozenců zařazených do studie nejsou k dispozici.

### **6.2.1.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučovaném dávkování vitamínu D.**

Kritéria pro vyloučení ze studie byla: neposkytnutí informovaného souhlasu se studií; chybějící vyšetření vitamínu D v mateřském séru před porodem nebo chybějící vyšetření vitamínu D z pupeční krve; novorozenci, kteří zemřeli krátce po narození anebo měli vrozené vývojové vady.

### **6.2.1.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časně morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.**

Kritéria pro vyloučení ze studie byla: neposkytnutí informovaného souhlasu se studií; chybějící vyšetření vitamínu D z pupeční krve; intrauterinní růstová restrikce plodu; vrozené vývojové vady novorozence.

## **6.2.2. Protokol studie**

Těhotným ženám byly vzorky žilní krve odebrány krátce před porodem. Dále byly provedeny odběry krve z pupečního provazce, u novorozenců byly realizovány odběry žilní krve ve stáří 28 dní a při propuštění nemocnice. Vzorky mateřského séra a pupečnickové krve byly analyzovány pouze na sérové hladiny 25(OH)D, Parathormon, 25(OH)D, S-Ca, S-P, alkalická fosfatáza, vápník v moči a fosfor (uváděné jako poměr ke kreatininu v moči) byly měřeny u novorozenců ve stáří 28 dní a při propuštění z nemocnice. Odběry krve byly prováděny mezi 7. a 8. hodinou ranní. Krev byla odebrána do standardní zkumavky a centrifugována nejpozději do 30 minut. Po oddělení séra byly okamžitě stanoveny hladiny S-Ca, S-P, ALP a PTH. Druhá část séra byla ihned zmrazena na teplotu -80 °C a skladována do definitivní analýzy 25(OH)D. Před odběry krve byly sesbírány vzorky moče v intervalu šesti hodin. Bylo prokázáno, že výsledky odpadů minerálů do moči za 6 hodin vysoce korelují s jejich celkovou denní exkrecí (34). S-Ca, S-P, ALP, U-Ca, U-P a U-kreatinin byly měřeny systémem Cobas 8000, Roche, Basilej, Švýcarsko. Ke stanovení parathormonu a 25(OH)D byla použita stejná metodika (viz kapitola 5.1.2). Taktéž parenterální a enterální výživa sledovaných novorozenců byla vedena podle stejného nutričního protokolu, který byl sestaven dle aktuálních výživových doporučení pro předčasně narozené novorozence (24, 32, 33).

Ačkoli neexistuje globální shoda o optimálních hladinách 25(OH)D v séru, u mnoha autorů je sérová koncentrace  $<50$  nmol/l považována za deficientní a sérová koncentrace  $<25$  nmol/l pak za těžkou deficienci vitamin D pro celou dětskou populaci (8, 9, 35-37). Novorozenci splňující indikační kritéria byli rozděleni podle sérové hladiny 25(OH)D na dvě skupiny: na skupinu A s hladinou 25(OH)D  $\leq 25$  nmol a skupinu B s hladinou 25(OH)D  $> 25$  nmol/l.

### **6.2.3. Sledované laboratorní a klinické charakteristiky**

Laboratorní měření zahrnovala hladiny vápníku, fosforu, alkalické fosfatázy a parathormonu v séru a kreatininové indexy vápníku a fosforu v moči. Mezi klinické charakteristiky byly zařazeny: intubace na porodním sále, skóre APGAR  $\leq 3$  v 1. a 5. minutě, syndrom dechové tísně (RDS; diagnostika se zakládá na přítomnosti respirační tísně a typických radiologických nálezů na rentgenovém snímku hrudníku), podání surfaktantu, bronchopulmonální dysplazie (BPD,  $\geq$  střední stupeň; definice BPD podle Jobeho a Bancalariho (30)), použití kortikosteroidů (hydrocortison) pro BPD, medikamentózně léčená otevřená tepenná dučej (patent ductus arteriosus, PDA), pneumothorax, nekrotizující enterokolitida (NEC; definováno pomocí Bellových kritérií (31)), spontánní střevní perforace (SIP), intraventrikulární krvácení (stupeň II-IV, definováno podle Volpeho klasifikace (29)), cystická periventrikulární leukomalacie (PVL), časná a pozdní sepse (kultivačně prokázaná nebo klinicky suspektní sepse léčená antibiotiky po dobu nejméně 5 dnů), retinopatie nedonošených novorozenců (všech stupňů), délka hospitalizace, hmotnost, výška a obvod hlavy při propuštění, počet dnů ventilační podpory do propuštění (neinvazivní pozitivní přetlaková ventilace a umělá plicní ventilace), denzitometrie bederní páteře při propuštění a mortalita. Kostní mineralizace byla hodnocena před propuštěním pomocí kostní denzitometrie s použitím komerčně dostupného přístroje DXA (Hologic Discovery A, výrobce, Hologic Inc., 250 Campus Drive, Marlborough, MA 01752 USA) v režimu AP Spine, protokol Infant Spine Analysis (APEX pro Windows 7 verze 4.5.3.2); Hologic). Cílovou oblastí byla denzitometrie bederní páteře (L1-L4). Všechna vyšetření provedl jeden technik. Kostní minerální denzita (BMD, g/cm<sup>2</sup>) byla kalkulována jako podíl obsahu minerálních látek (BMC, g) na plochu kosti (BA, cm<sup>2</sup>).

### **6.2.4. Statistické hodnocení**

Data byla analyzována pomocí statistického softwaru NCSS 11 (2016) (NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, [ncss.com/software/ncss](http://ncss.com/software/ncss)). Kvalitativní data jsou prezentována jako čísla a procenta, zatímco kvantitativní data jsou uváděna jako medián s mezikvartilovým rozmezím

(IQR). Pro kvalitativní údaje bylo meziskupinové srovnání provedeno pomocí testu chí-kvadrát nebo Fisherova exaktního testu. Pro kvantitativní údaje bylo meziskupinové porovnání vypočteno pomocí Mann-Whitneyho nebo Kolmogorov-Smirnovova testu. Srovnání mezi více než dvěma skupinami bylo vypočteno pomocí Kruskal-Wallis ANOVA s post-hoc Dunnovým testem. Ke stanovení korelace mezi dvěma kvantitativními parametry ve stejné skupině byly použity Spearmanovy korelační koeficienty. Nakonec byla použita logická regresní analýza k posouzení rizikových faktorů RDS. Hladina významnosti byla stanovena na  $\alpha = 0.05$ .

## **7. Výsledky**

### **7.1 Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu - pilotní studie**

V období od listopadu 2013 do září 2014 bylo hospitalizováno 45 novorozenců s porodní hmotností 1000 g až 1500 g. 20 z nich splnilo vstupní kritéria pro tuto pilotní studii. Ostatní byli vyloučeni, nejčastěji z důvodu závažné. Medián (IQR) gestačního týdne byl 29.2 (28.1-30.1) a porodní hmotnost byla 1255 g (1150-1365 g). 65 % (13) sledované skupiny tvořili chlapani a 35 % (7) dívky.

#### **7.1.1. Parathormon**

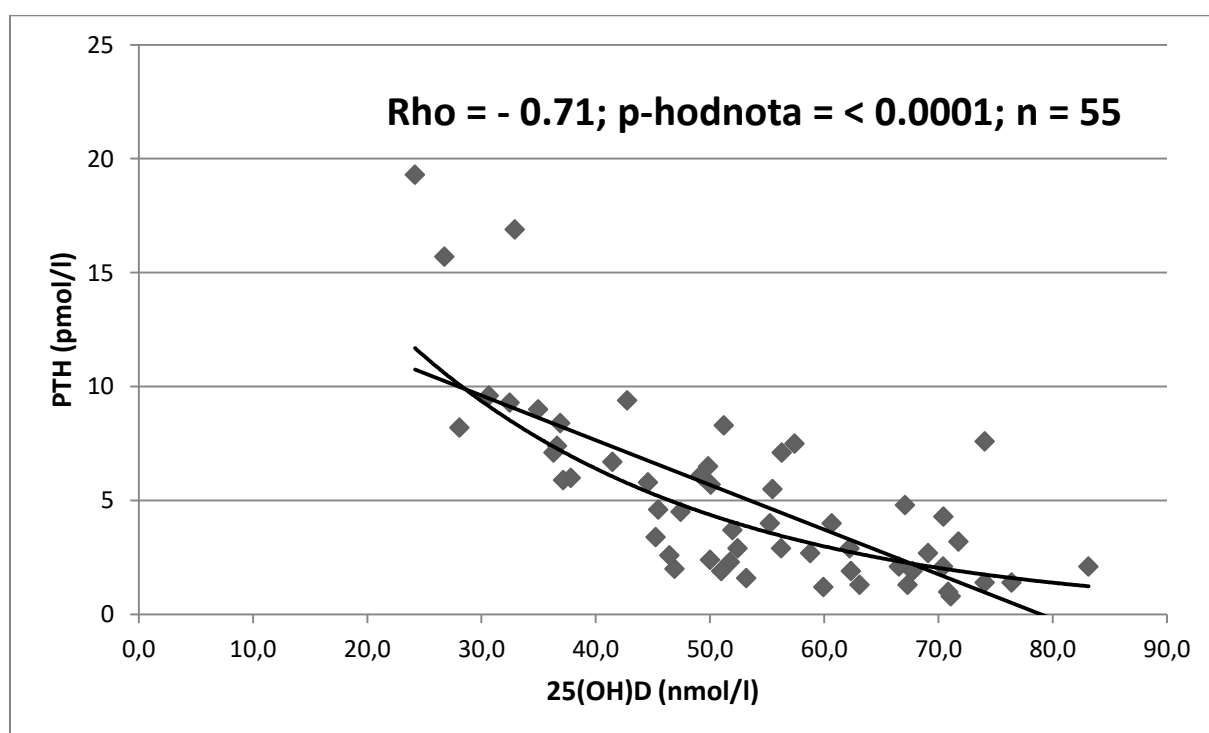
Hladina PTH v pupečníkové krvi ( $n = 10$ ) byla velmi nízká (medián; IQR): 0.9 (0.6 - 1.6) pmol/l. U ostatních novorozenců, u nichž nebyla k dispozici pupečníková krev, byl PTH měřen v séru během prvních 24 hodin života ( $n = 7$ ) a jeho hladina byla zcela odlišná (medián; IQR): 7.4 (4.8 - 11.9) pmol/l. Ve všech vzorcích vyšetřovaných od prvního postnatálního týdne ( $n = 134$ ) byl medián (IQR) sérových hodnot PTH 4.1 (2.6 - 6.7) pmol/l. Fyziologické rozmezí hladin PTH u předčasně narozených novorozenců bylo odhadnuto jako 1.6 - 9.3 pmol/l. Bylo vypočteno jako 10. percentil (dolní mez) a 90. percentil (horní limit) všech měřených hladin PTH od prvního týdne života ( $n = 134$ ).

#### **7.1.2. Vztah mezi parathormonem a ostatními markery kostního metabolismu**

Nebyla zjištěna žádná statisticky významná korelace mezi PTH a S-Ca nebo S-P. Podobně nebyl potvrzen žádný vztah mezi hladinami PTH a ALP, s výjimkou 56. dne života ( $p = 0.03$ ;  $Rho = 0.76$ ;  $n = 8$ ). Medián (IQR) hladiny vitamínu D [25(OH)D] ve vzorcích pupečníkové krve ( $n = 12$ ) byl 20.1 (18.6 - 25.4) nmol/l a v séru novorozenců vyšetřených v prvních 24

hodinách po narození byl 45.7 (25.0 – 54.2) nmol/l. 75 % novorozenců bylo vitamin D deficitních (tj. pod 50 nmol/l) a více než polovina dětí měla těžký deficit vitaminu D (tj. pod 25 nmol/l). V 36. gestačním týdnu zjištěna deficeience vitaminu D (tj. pod 50 nmol/l) u 30 % nezralých novorozenců zařazených v naší studii, medián (IQR) 58.1 (44.1 – 70.5) nmol/l. V prvních 4 postnatálních týdnech nebyla zachycena signifikantní korelace mezi PTH a vitaminem D [25(OH)D]. Situace se ale změnila od 2. měsíce života (Graf 1), kdy byla prokázána významná korelace mezi PTH a 25(OH)D ( $Rho = -0.71$ ,  $p = <0.0001$ ;  $n = 55$ ). S klesající hladinou vitaminu D rostla sérová hladina PTH.

**Graf 1 Korelace mezi parathormonem a 25-hydroxyvitaminem D**



Legenda:

*Na bodovém grafu jsou znázorněna měření 25(OH)D (osa x) ve vztahu k hodnotám PTH (osa y) od 5. postnatálního týdne. Statisticky významnou korelaci mezi hladinou parathormonu (PTH) a hladinou 25-hydroxyvitaminu D (25 (OH) D) je možné prokázat od druhého měsíce s korelačním koeficientem pro 25(OH)D  $Rho = - 0.71$  ( $p = <0.0001$ ,  $n = 55$ ). U novorozenců předčasně narozených je klesající hladina vitaminu D doprovázena zvýšením PTH.*

## 7.2 Výsledky prospektivní observační kohortové studie

### ***7.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučovaném dávkování vitamínu D.***

Od ledna 2015 do prosince 2016 bylo na novorozeneckou jednotku intenzivní a resuscitační péče přijato celkem 183 novorozenců s porodní hmotností pod 1500 g. 94 z nich splnilo vstupní kritéria pro tuto studii. Ostatní byli vyloučeni. 13 novorozenců nedokončilo studii (chybějící vzorek krve při propuštění), nejčastěji kvůli úmrtí během pobytu v nemocnici. Medián (IQR) gestačního týdne při narození byl 29 (27-30) a porodní hmotnost byla 1160 (850-1316) gramů. 56.4 % (53) studijní skupiny byli chlapci a 43.6 % (41) dívky. Všechny těhotné ženy byly kavkazského původu. Obecné charakteristiky matek jsou shrnuty v tabulce 1. Hladiny 25(OH)D v mateřské i pupečnickové krvi vykazovaly sezónní kolísání. Střední hodnota (IQR) vitamínu D [25(OH)D] vzorků mateřského séra před porodem byla 32 (22 - 53) nmol / l. Střední hladina (IQR) vitamínu D [25(OH)D] ve vzorcích pupečnickové krve byla 21 (14 - 36) nmol / l. 72.1 % (n = 62) vzorků mateřského séra a 91.5 % (n = 86) vzorků pupečnickové krve bylo vitamin D deficientní (pod 50 nmol / l) a 56.4 % (n = 53) vzorků krve z pupečnicku bylo těžce deficientní (pod 25 nmol / l). Při propuštění (průměrně v 37. gestačním týdnu) byly hladiny 25(OH)D pod 75 / 50 nmol/l zjištěny u 91.4 % (n = 74) respektive 59.3 % (n = 48) předčasně narozených novorozenců. U 7.4 % (n = 6) předčasně narozených dětí mělo při propuštění 25(OH)D pod 25 nmol / l. Byla zjištěna významná korelace mezi vitamínem D [25(OH)D] ve vzorcích mateřského séra a vzorcích pupečnickové krve (Rho = 0.83, p <0.0001; n = 94) (Graf 2).



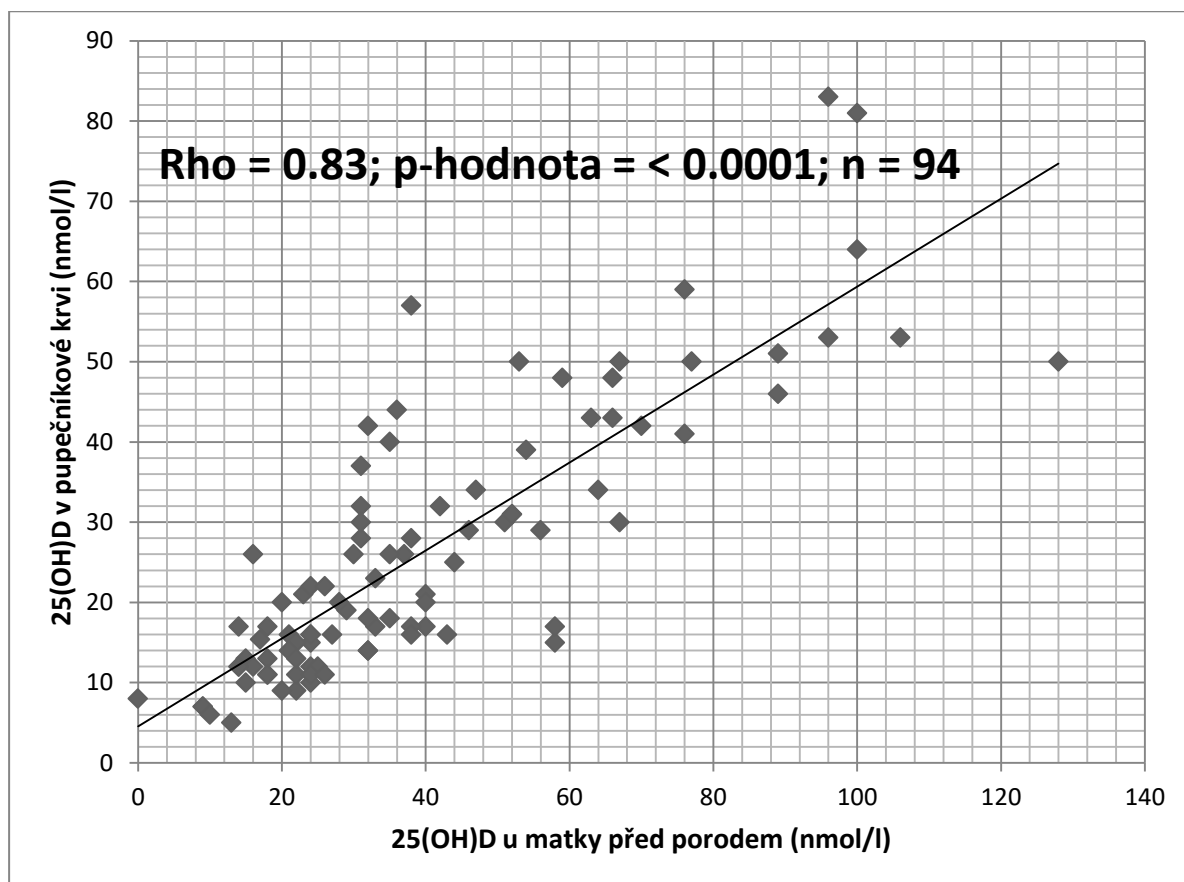
**Tabulka 1** Obecné charakteristiky matek ve studii a sezónní změny vitamínu D

Charakteristiky		n = 86				
<b>Věk (roky)</b>	< 25	13 (15.1%)				
	26-30	33 (37.4%)				
	31-35	20 (23.3%)				
	> 35	20 (23.3%)				
<b>Parita</b>	Primipara	61 (70.9%)				
	Multipara	25 (29.1%)				
<b>Těhotenství</b>	Jednočetné	71 (82.6%)	<b>25(OH)D; medián (IQR); nmol/l</b>		<b>25(OH)D &lt; 50 nmol/l</b>	
	Dvojčata	15 (17.4%)	<b>Matky</b>	<b>Pupečník</b>	<b>Matky</b>	<b>Pupečník</b>
<b>Roční období</b>	Prosinec-Únor	27 (31.4%)	24 (19-39)	17 (13-27)	25 (92.6%)	28(100%)
	Březen-Květen	21 (24.4%)	24 (22-32)	16 (12-21)	21 (100%)	25 (100%)
	Červen-Srpen	16 (18.6%)	67 (33-91)	47 (29-53)	6 (37.5%)	11 (61.1%)
	Září-Listopad	22 (25.6%)	52 (29-62)	30 (16-44)	10 (45.5%)	22 (95.7%)

Legenda:

*Celkově bylo do studie zařazeno 86 matek. Věkové rozložení odpovídalo současným trendům. Počet prvorodiček převládá, stejně jako jednočetné těhotenství. Z 15 dvojčat osm dětí nesplnilo kritéria pro zařazení do studie. Počet porodů v jednotlivých ročních obdobích byl srovnatelný. Sérové hodnoty vitamínu D v mateřské i pupečnickové krvi vykazovaly sezónní změny. V důsledku toho se výskyt deficiencie vitamínu D lišil podle ročního období. Zkratka: 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.*

**Graf 2** Korelace mezi mateřským 25(OH)D při porodu a hodnotou 25(OH)D u novorozenců při narození



Legenda:

*Bodový graf znázorňuje zjištění hodnoty mateřského 25(OH)D před porodem (osa x) ve vztahu k hodnotám 25(OH)D v pupečnickové krvi (osa y). Byla nalezena statisticky významná korelace mezi oběma hladinami ( $Rho = 0.83$ ;  $p = < 0.0001$ ;  $n = 94$ ).*

### **7.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.**

Od ledna 2015 do prosince 2016 bylo na novorozeneckou jednotku intenzivní a resuscitační péče přijato 183 novorozenců s porodní hmotností pod 1500 g. 81 z nich splnilo vstupní kritéria pro tuto studii a bylo rozděleno do skupin podle hladiny vitamínu D v pupečnickové krvi [skupina A ( $n = 36$ ):  $25(OH)D \leq 25$  nmol / l a skupina B ( $n = 45$ ):  $25(OH)D$

> 25 nmol / l. 12 novorozenců nedokončilo studii (chybějící vzorky krve při propuštění), nejčastěji kvůli úmrtí během pobytu v nemocnici. Medián (IQR) vitamínu D [25(OH)D] všech dostupných vzorků mateřského séra před porodem (n = 59; nedostupných bylo 22 vzorků) byl 38 (24 - 66) nmol / l. Medián (IQR) 25(OH)D vzorků mateřského séra novorozenců zahrnutých do skupiny A (n = 32) a skupiny B (n = 27) byl 24 (18-36), respektive 67 (52-89) nmol/l. Medián (IQR) gestačního týdne všech novorozenců zařazených do studie byl 29 (27-30) týdnů a medián (IQR) porodní hmotnosti byl 1190 (930-1340) g. Medián (IQR) hladiny 25(OH)D v pupečnickové krvi byl 29 (17-48) nmol / l. Při narození mělo 81.5 % novorozenců hladinu 25(OH)D <50 nmol / l a 44.4 % mělo hladinu <25 nmol / l. Všechny děti byly kavkazského původu. 59.3 % (48) ze studijní skupiny byli chlapci a 40.7 % (33) byly dívky (Tabulka 2).

S použitím mezní hodnoty 25(OH)D 25 nmol / l byly zařazení novorozenci rozděleni do dvou skupin, skupina A 25(OH)D ≤ 25 nmol / l a skupina B: 25(OH)D > 25 nmol / l. Následně byly obě skupiny porovnávány mezi sebou v laboratorních a klinických parametrech (Tabulka 2 a 3). Medián (IQR) gestačního týdne novorozenců ve skupině A byl 29 (28-30) týdnů versus 28 (26-29) týdnů ve skupině B (signifikantní rozdíl) a medián (IQR) porodní hmotnosti byl 1270 (1075-1385) g ve skupině A versus 1110 (840-1330) g ve skupině B (nesignifikantní rozdíl). Byl nalezen signifikantní rozdíl v mediánu Ca/kreatininového indexu. Ve stáří 28 dnů měli novorozenci ve skupině A: 25 (OH) D ≤ 25 nmol / l nižší hladinu vápníku v moči (p = 0.0272). U ostatních laboratorních nálezů a klinických charakteristik nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Byla zachycena tendence k vyššímu riziku RDS, použití kortikosteroidů z důvodu BPD a ROP ve skupině s 25(OH)D > 25 nmol / l, nicméně tento rozdíl nenabyl statistické významnosti. Logistická regresní analýza prokázala, že v naší kohortě hladina vitamínu D z pupeční krve nevede k vyššímu nebo nižšímu riziku RDS a gestační týden je jediným nezávislým rizikovým faktorem pro RDS (p = 0.0124), odds ratio (OR): 0.554, 95% CI (0.35–0.88). S každým poklesem gestačního stáří o jeden týden se zvyšuje pravděpodobnost RDS o 45 %.

**Tabulka 2 Porovnání demografických a laboratorních nálezů mezi skupinami**

<b>Charakteristiky</b>	<b>Všichni novorozenci (n= 81)</b>	<b>Skupina A (<math>\leq 25</math> nmol/l) (n = 36)</b>	<b>Skupina B (<math>&gt; 25</math> nmol/l) (n = 45)</b>	<b>P -hodnoty</b>
<b>Gestační stáří v týdnech, medián (IQR)</b>	29 (27-30)	29 (28-30)	28 (26-29)	<b>0.0484</b>
<b>Porodní hmotnost, g, medián (IQR)</b>	1190 (930-1340)	1270 (1075-1385)	1110 (840-1330)	0.0747
<b>Mužské pohlaví, n (%)</b>	48 (59.3)	19 (52.8)	29 (64.4)	0.288
<b>Prenatální steroidy (indukce plicní zralosti)</b>				
- Kompletní, n (%)	48 (59)	20 (56)	28 (62)	0.318
- Nekompletní, n (%)	31 (38)	14 (39)	17 (38)	
- Žádná, n (%)	2 (2)	2 (6)	0 (0)	
<b>Způsob porodu</b>				
- Vaginální, n (%)	41 (51)	18 (50)	23 (51)	0.921
- Císařský řez, n (%)	40 (49)	18 (50)	22 (49)	
<b>25(OH)D u matek před porodem, medián (IQR), nmol/l</b>	38 (24-66)	24 (18-36)	67 (52-89)	
<b>25(OH)D z pupečnickové krve, medián (IQR), nmol/l</b>	29 (17-48)	16 (12-18)	46 (32-53)	
- 25(OH)D < 50 nmol/l, n (%)	66 (81.5)	36 (100)	30 (66.7)	
<b>Počet dětí při propuštění, n</b>	69	31	38	
<b>Gestační týden při propuštění, průměr (SD)</b>	37 (2,5)	36.7 (2.3)	37.2 (2.5)	0,357
<b>25(OH)D u dětí při propuštění, medián (IQR), nmol/l</b>	48 (37-63)	48 (37-62)	48 (37-65)	0.937
- Děti s 25(OH)D < 50 nmol/l, n (%)	38 (55.1)	17 (54.8)	21 (55.3)	1.000
<b>Kalcium, medián (IQR), mmol/l</b>				

- Den 28	2.4 (2.4-2.5)	2.5 (2.4-2.5)	2.4 (2.4-2.5)	0.992
- Při propuštění	2.4 (2.3-2.5)	2.4 (2.3-2.4)	2.4 (2.3-2.5)	0.488
<b>Fosfor, medián (IQR), mmol/l</b>				
- Den 28	2.1 (1.9-2.2)	2.1 (1.9-2.2)	2.1 (2.0-2.2)	0.878
- Při propuštění	2.0 (1.9-2.0)	2.0 (1.9-2.1)	2.0 (1.9-2.0)	0.875
<b>Alkalická fosfatáza, medián (IQR), <math>\mu</math>kat/l</b>				
- Den 28	6.8 (4.8-7.2)	5.8 (4.9-6.9)	6.5 (4.6-7.3)	0.497
- Při propuštění	6.6 (5.6-7.8)	6.5 (5.1-8.0)	6.6 (5.7-7.8)	0.732
<b>PTH, medián (IQR), pmol/l</b>				
- Den 28	4.0 (2.7-5.6)	4.0 (3.0-5.7)	3.9 (2.0-5.6)	0.285
- Při propuštění	2.6 (1.6-4.6)	2.8 (2.0-4.8)	2.3 (1.3-3.9)	0.253
<b>Kalcium/kreatininový index, medián (IQR)</b>				
- Den 28	1.5 (0.8-2.7)	1.2 (0.7-2.0)	2.2 (1.1-3.1)	<b>0.0272</b>
- Při propuštění	1.8 (0.7-3.0)	1.7 (0.6-3.0)	1.8 (1.1-2.8)	0.517
<b>Fosfor/kreatininový index, medián (IQR)</b>				
- Den 28	5.6 (2.9-8.4)	5.8 (2.6-8.3)	5.5 (3.3-8.3)	0.670
- Při propuštění	0.9 (0.0-4.9)	0.0 (0.0-3.0)	1.5 (0.0-5.3)	0.196

Zkratky: 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; PTH, parathormon. P-hodnoty tučně označují statistickou významnost ( $p < 0.05$ ).

**Tabulka 3 Porovnání skupiny A a B podle klinických charakteristik**

<b>Charakteristiky</b>	<b>Skupina A (<math>\leq 25</math> nmol/l) (n = 36)</b>	<b>Skupina B (<math>&gt; 25</math> nmol/l) (n = 45)</b>	<b>P-hodnoty</b>
<b>Intubace na porodním sále, n (%)</b>	2 (6)	7 (16)	0.286
<b>Apgar skóre <math>\leq 3</math></b>			
V 1. minutě, n (%)	2 (6)	5 (11)	0.454
V 5. minutě, n (%)	1 (3)	0 (0)	0.444
<b>Syndrom dechové tísně (RDS), n (%)</b>	27 (75)	41 (91)	0.0687
<b>Podání surfaktantu, n (%)</b>	12 (33)	21 (47)	0.225
<b>Broncho-pulmonální dysplasie (BPD, <math>\geq</math> středně těžká), n (%)</b>	2 (6)	3 (7)	1.000
<b>Steroidy (hydrocortison) pro BPD, n (%)</b>	2 (6)	10 (22)	0.0568
<b>PDA – farmakologicky léčená, n (%)</b>	3 (8)	4 (9)	1.000
<b>Pneumotorax, n (%)</b>	1 (3)	2 (4)	1.000
<b>Nekrotizující enterokolitida (všechny stádia NEC), n (%)</b>	1 (3)	6 (13)	0.125
<b>Spontánní střevní perforace (SIP), n (%)</b>	1 (3)	1 (2)	1.000
<b>Nitrokomorové krvácení (stupeň II-IV), n (%)</b>	3 (8)	8 (18)	0.330
<b>Cystická periventrikulární leukomalacie (PVL), n (%)</b>	0 (0)	0 (0)	1.000
<b>Časná sepse novorozence (&lt;72h)</b>			
- hemokultura pozitivní, n (%)	2 (6)	3 (7)	1.000
- klinicky suspektní (hemokultura negativní), n (%)	1 (3)	0 (0)	0.444
<b>Pozdní sepse novorozence</b>			

- hemokultura pozitivní, n (%)	6 (17)	5 (11)	0.526
- klinicky suspektní (hemokultura negativní), n (%)	1 (3)	3 (7)	0.625
<b>Retinopatie nedonošených (všechny stádia ROP), n (%)</b>	3 (8)	11 (24)	0.0774
<b>Délka pobytu v nemocnici, medián (IQR)</b>	60 (46-71)	59 (44-84)	0.528
<b>Propuštění</b>			
- Hmotnost (g), medián (IQR)	2760 (2540-2985)	2790 (2470-3090)	1.000
- Výška (cm), medián (IQR)	47 (46-49)	47 (45-49)	0.542
- Obvod hlavy (cm), medián (IQR)	34 (33-35)	34 (32-35)	0.822
<b>Potřeba umělé plicní ventilace, n (%)</b>	11 (30.6)	19 (43.2)	0,246
<b>Počet dnů na dechové podpoře do propuštění</b>			
- nCPAP, medián (IQR)	14 (4-43)	33 (10-52)	0.171
- IMV, medián (IQR)	0 (0-1)	0 (0-5)	0.432
<b>Úmrtí do propuštění, n (%)</b>	2 (6)	7 (16)	0.286
<b>Denzitometrie lumbální páteře před propuštěním, n</b>	32	36	
BMC (g); medián (IQR)	1,02 (0,83-1,18)	0,99 (0,76-1,13)	0.291
BMD (g/cm <sup>2</sup> ); medián (IQR)	0,13 (0,11-0,13)	0,12 (0,10-0,13)	0.198

*Zkratky: nCPAP, nosní kontinuální pozitivní přetlak; IMV, umělá plicní ventilace; P-hodnoty tučně označují statistickou významnost ( $p < 0.05$ ).*

## 8. Diskuse

### 8.1. Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie

Primárním cílem této pilotní studie bylo odhadnout fyziologické rozmezí hladin sérového PTH v souboru 20 předčasně narozených dětí s porodní hmotností 1000 - 1500 g. Ve snaze posoudit výhradně „fyziologické“ předčasně narozené novorozence byly do studie zařazeny pouze novorozenci bez těžké morbidity, která by mohla významně ovlivnit naměřené hodnoty. Pokud je nám známo, jednalo se o první studii, která se pokusila zjistit fyziologické hodnoty PTH u novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností. Z celkového počtu 134 vyšetřených hladin PTH bylo vypočteno fyziologické rozmezí pro PTH jako 1.65 – 9.3 pmol/l, které je velmi blízké referenčnímu rozmezí pro dospělé (1 - 7 pmol/l). Na základě tohoto zjištění, jsme došli k závěru, že hodnoty PTH pro dospělé mohou být využity v populaci předčasně narozených dětí. Současně se zdá, že vzestup PTH nad výše uvedené rozmezí u předčasně narozených novorozenců lze považovat za hyperparatyreózu (38). Druhým cílem pilotní studie bylo objasnit vztah mezi PTH a ostatními markery kostního metabolismu. Statisticky významná se ukázala být pouze korelace mezi PTH a 25(OH)D (38). Postnatální funkcí aktivovaného vitamínu D je zajistit absorpci Ca (a v menším množství také P) ze střeva. Zdá se, že u předčasně narozených dětí je hydroxylace vitamínu D na kalcitriol funkční od prvního dne života (39). Předpokládá se, že vstřebávání Ca ze střeva u velmi nezralých novorozenců je během prvního měsíce života zajištěna především pasivní difúzí. V souvislosti s dozráváním střevní sliznice stoupá v průběhu čtyř postnatálních týdnů resorpce vitamínu D a exprese receptorů pro kalcitriol a transportních proteinů asociovaných s vápníkem (Calbindin D9K, D28K). Dominantním mechanismem absorpce vápníku ze střeva se tak postupně stává transport řízený kalcitriolem (33, 40). Naše publikované výsledky podporují tyto předpoklady. Prokázali jsme, že od druhého měsíce života stoupá sérová hladina PTH v těsné korelaci s klesající hladinou vitamínu D [25(OH)D] (38). Vzestup PTH u novorozenců v našem souboru nelze považovat za projev sekundární hyperparatyreózy, spíše za fyziologické změny v rámci odhadovaného fyziologického rozmezí 1.6 – 9.3 pmol/l. Na základě výše zmíněného lze v případě dlouhodobého nedostatku vápníku a/nebo vitamínu D očekávat rozvoj sekundární hyperparatyreózy i u nedonošených novorozenců.

Řada studií z posledních let prokázala velmi nízké hladiny 25(OH)D jak u těhotných žen, tak u jejich donošených či nedonošených novorozenců (2-6). Monangi poukázal na nedostatečné hladiny 25(OH)D u 2/3 matek a jejich předčasně narozených novorozenců (3). Výsledky pilotní



studie jsou prakticky identické, 75 % našich novorozenců mělo v pupečnickové krvi deficitní hladiny 25(OH)D. I přes 4-8 týdnů trvající suplementaci vitamínu D dle aktuálního doporučení ESPGHAN přetrvávala deficiencie vitamínu D až u 30 % novorozenců v pilotní studii.

## **8.2 Diskuze - Prospektivní observační kohortové studie**

### ***8.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučovaném dávkování vitamínu D.***

Byla prokázána velmi vysoká prevalence deficitu vitamínu D ( $< 50 \text{ nmol / l}$ ) u těhotných žen (71.3 %) a v pupečnickové krvi jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností (91.5 %) (13). Globální prevalence hladiny 25(OH)D  $< 50 \text{ nmol / l}$  je 54 % u těhotných žen a 75 % u novorozenců, zatímco 18 % těhotných žen a 29 % novorozenců má hladinu vitamínu D  $< 25 \text{ mmol / l}$ , což je prahová hodnota svědčící o zvýšeném riziku rozvoje nutriční křivice (8). Těžká deficiencie vitamínu D byla v našem souboru nalezena u 36 % těhotných žen a 56 % předčasně narozených novorozenců. Ve srovnání se zbytkem světa máme podstatně horší výsledky. V řadě studií je možné nalézt dvojnásobné hodnoty vitamínu D v mateřské a pupečnickové krvi (2, 3, 41-45). Pouze několik článků popisuje srovnatelné výsledky. Většina žen však měla nízké socioekonomické zázemí nebo se jednalo o stoupenkyně tradičního islámského stylu (5, 46, 47).

Dále náš výzkum našel silnou korelaci mezi hodnotou 25(OH)D v mateřské a pupečnickové krvi a tím pádem jasnou souvislost mezi nedostatečnými zásobami vitamínu D u žen během těhotenství s deficitem tohoto vitamínu u předčasně narozených novorozenců (13). Mnoho studií dospělo k podobným závěrům (5, 43, 44, 46, 47). Pro předčasně narozené děti v našem souboru jsme použili podle ESPGHAN doporučovanou dávku vitamínu D 800 - 1 000 IU na den (33). To je ve shodě i s recentním doporučeným postupem České pediatričké společnosti pro suplementaci dětí vitamínem D (48). Novorozenci byli propuštěni do domácí péče průměrně v 37. gestačním týdnu (v průměru po 8 týdnech suplementace vitamínem D), ale přesto téměř 60 % z nich mělo nedostatečnou hladinu vitamínu D ( $< 50 \text{ nmol / l}$ ). Mnoho studií prokázalo, že dávka 800 - 1 000 IU dokáže účinně snížit prevalenci deficiencie vitamínu D a vede k vyšším koncentracím 25(OH)D do 36. gestačního týdne (41, 42, 45, 49, 50). Je třeba zmínit, že hladiny vitamínu D v mateřské a pupečnickové krvi byly ve všech zmíněných studiích dvojnásobné než v naší studii (41, 42, 45, 49, 50). Na základě našich výsledků jsme došli k závěru, že v situaci velmi nízké hladiny 25(OH)D v mateřské a pupečnickové krvi aktuálně doporučovaná dávka vitamínu D 800-1000 IU nemusí být dostatečná k dosažení požadované hladiny 25(OH)D  $> 50 \text{ nmol / l}$  (13). Cho a kol. taktéž uvedli, že dávka 800 IU denně může efektivně zvýšit hladinu vitamínu D u

novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti pouze v případě hladiny 25(OH)D při narození  $> 25$  nmol / l (51).

### ***8.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.***

V naší prospektivní kohortové studii jsme nezjistili signifikantní rozdíl mezi vybranými parametry minerálního a kostního metabolismu či časnou morbiditou při porovnání skupin nezralých novorozenců s hladinou vitamin D  $\leq$  nebo  $> 25$  nmol/l. To lze vysvětlit dvěma možnými způsoby. Buď hladina vitaminu D  $\leq$  nebo  $> 25$  nmol/l v pupečnickové krvi nemá žádný vliv na sledované parametry, nebo použitá mezní hodnota 25 nmol / l nemá dostatečnou sílu k detekci rozdílu.

V lednu 2015 bylo publikováno review stran vlivu vitaminu D na vývoj plic fétu a novorozence. Na základě velmi omezených humánních dat nebylo možné udělat žádné závěry. Laboratorní a animální výsledky však podporují hypotézu, že nedostatek vitaminu D je častým, modifikovatelným rizikovým faktorem pro RDS a BPD (25). V následujících letech vyšlo hned několik dalších studií zabývajících se touto problematikou. Onwuneme, Shah a Joung nenašli žádnou souvislost mezi stavem vitaminu D a RDS, BPD nebo jinými morbiditami nezralých novorozenců. Nicméně Onwuneme našel souvislost mezi stavem vitamínu D a akutní respirační morbiditou (definováno jako rozdíl v délce trvání pozitivní přetlakové ventilace a nejvyšší potřebné koncentrace kyslíku na porodním sále a pravděpodobnost potřeby umělé plicní ventilace (26, 52, 53). Fettah a kol. uvedli, že při použití mezní hodnoty 37.5 nmol / l se doba trvání umělé plicní ventilace mezi skupinami nelišila (27). V naší kohortě nebyla prokázána souvislost vitaminu D s RDS, BPD ani s trváním dechové podpory. Kromě toho jsme zjistili, že hladina vitaminu D v pupečnickové krvi nevede k vyššímu nebo nižšímu riziku RDS (odds ratio 1.044; 95% confidence interval 0.349-0.88;  $p = 0.0771$ ). Několik recentních studií však našlo možné spojení mezi stavem vitamínu D a vyšším rizikem RDS nebo BPD. Podle Çetinkaya a kol. je hladina vitaminu D u matky a předčasně narozeného dítěte významným prediktorem BPD (54). Hegazy a kol. prokázal, že nízký sérový vitamin D je při narození nezávislým rizikovým faktorem pro RDS (odds ratio 0.904; 95% confidence interval 0.822-0.994;  $p = 0.036$ ) (55). Fettah publikoval práci se závěrem, že vyšší úroveň 25(OH)D může být preventivní pro vývoj RDS (odds ratio 0.6; 95% confidence interval 0.5-0.8;  $p = 0.001$ ) (27). A konečně Yang (28) zjistil, že

u nezralých novorozenců narozených před 30. gestačním týdnem a / nebo mezi 30. a 34. gestačním týdnem byla koncentrace vitamínu D významně nižší, pokud byl jejich stav komplikován rozvojem RDS a BPD, než u těch, které neměly RDS nebo BPD (první gestační věk byl významný z hlediska RDS i BPD a druhý byl významný pouze z hlediska BPD). Autoři předpokládají, že dostatečná hladina vitamínu D je prospěšná pro plicní zrání.

V naší studii byla zachycena tendence k vyššímu riziku RDS, použití kortikosteroidů pro BPD a ROP u novorozenců ve skupině B, nicméně tento trend nebyl statisticky významný. Gestační týden při narození ve skupině B ( $> 25$  nmol / l) byl statisticky významně nižší než gestační týden ve skupině A ( $\leq 25$  nmol / l), což může vysvětlovat relativně vyšší výskyt RDS, použití kortikosteroidů a ROP v této skupině. Navíc multivariační logistická regresní analýza prokázala, že v naší kohortě je pouze gestační týden nezávislým rizikovým faktorem pro RDS. To znamená, že s klesajícím gestačním týdnem stoupá riziko RDS.

K transplacentárnímu přenosu vápníku a fosforu (nikoliv vitamínu D) dochází hlavně ve třetím trimestru těhotenství (56). Rovněž bylo publikováno, že hladiny vitamínu D v pupečnickové krvi korelují s mateřskou hladinou vitamínu D jak u předčasně narozených dětí, tak i u donošených novorozenců (39). Studie Atasevena a kol. (57) prokázala, že stav vitamínu D nesouvisí s gestačním věkem [ $r = 0.039$ ;  $p = 0.634$ ]. V práci Parka a kol. sérové koncentrace 25(OH)D jednoznačně nekorelovaly s gestačním věkem. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly v koncentracích 25(OH)D ani ve výskytu těžké deficiencie vitamínu D u těžce, středně nebo lehce nezralých novorozenců (58). Jak jsme již dříve uvedli my i další, koncentrace 25(OH)D u plodu a novorozence závisí na mateřské hladině v průběhu celého těhotenství a významně s ní korelují, protože plod nemá endogenní produkci 25(OH)D a závisí na transplacentárním přenosu (5, 13, 43, 44, 46, 47). Na základě těchto zjištění jsme dospěli k závěru, že předčasný porod nevede k vyššímu riziku nízkých hladin 25(OH)D a pouze aktuální hladina 25(OH)D v mateřském séru je zodpovědná za hladinu vitamínu D u novorozence při porodu. Naše současné výsledky tyto závěry podporují. Předčasně narození novorozenci ve skupině s nižší hladinou vitamínu D měli vyšší gestační věk. Současně hladiny vitamínu D z mateřského séra před porodem u novorozenců zařazených do skupiny B (vyšší hladina vitamínu D) byly více než dvojnásobné než u mateřského séra novorozenců zařazených do skupiny A (nižší hladina vitamínu D).

Několik studií uvádělo signifikantně nižší hladinu vitamínu D u matek a u jejich donošených či nezralých novorozenců s časnou nebo pozdní sepsí ve srovnání s těmi, kteří sepsi neměli (23, 59). Existuje také potenciální souvislost mezi nedostatkem vitamínu D a nekrotizující enterokolitidou u předčasně narozených dětí (60). Tayel a kol. našli vztah mezi polymorfismem

genu pro VDR Vdr (zejména genotyp FokI TT) a vyšším rizikovým faktorem pro novorozeneckou sepsi a nižší hladiny vitamínu D (61).

Role vitamínu D v metabolismu vápníku je obecně známa. Naše data tyto znalosti podporují. Novorozenci ve skupině s  $25(\text{OH})\text{D} \leq 25 \text{ nmol / L}$  měli ve věku 28 dnů v moči nižší odpady vápníku ( $p = 0.0272$ ). Rozdíl v Ca/krea indexu vymizel do propuštění a to v důsledku vyrovnání sérových hladin  $25(\text{OH})\text{D}$  mezi skupinami. Pokud jsme se zaměřili na porovnání stavu mineralizace skeletu mezi skupinami, BMC a BMD lumbální páteře se statisticky nelišily (medián  $0.13$  vs.  $0.12 \text{ g/cm}^2$ ). Cho a kol. taktéž nenašli signifikantní rozdíl v kostní denzitometrii lumbální páteře (BMD průměr  $0.11 \pm 0.02$  vs.  $0.10 \pm 0.02 \text{ g/cm}^2$ ) mezi dvěma skupinami nezralých novorozenců rozdělených podle hladiny pupečnickového vitamínu D ( $\leq 25 \text{ nmol/l}$  vs.  $> 25 \text{ nmol/l}$ ) (51). U 279 novorozenců s porodní hmotností pod 1500g (medián porodní hmotnosti 970g a gestačního týdne 28) a ALP pod  $8.5 \mu\text{kat/l}$  při propuštění z nemocnice byla provedena denzitometrie lumbální páteře s následnou stratifikací do skupin dle hodnot naměřené BMD: špatné (<10. percentil)  $<0.068 \text{ g/cm}^2$ , uspokojivé (10. - 25. percentil)  $0.068-0.081 \text{ g/cm}^2$ , dobré (25.-75. percentil)  $0.081-0.112 \text{ g/cm}^2$  a velmi dobré (>75. percentil)  $> 0.112 \text{ g/cm}^2$  (62). Podle tohoto rozdělení by novorozenci v naší kohortě mohli být zařazeni do kategorie dobré až velmi dobré BMD, i přes vysokou prevalenci vitamínu D v pupečnickové krvi (81.5 %) a při propuštění z nemocnice (55 %). V jiné studii nebyl prokázán vliv dávky vitamínu D (400 IU vs. 800 IU od narození do původního termínu porodu) na kostní minerálovou denzitu (4). Několik prací našlo signifikantně nižší hodnoty BMD lumbální páteře u nezralých novorozenců při srovnání s kontrolní skupinou donošených novorozenců. Ve všech případech ale došlo k normalizaci BMD u původně nezralých novorozenců nejpozději do 2 let (63-65). V roce 2006 byla v Lancetu publikována studie, která našla souvislost deficientní hladiny vitamínu D v pozdním těhotenství a redukci BMC u 9 letých dětí při srovnání s kontrolní skupinou dětí matek s normální hladinou vitamínu D (18). Z čehož je možné vyvozovat zvýšené riziko časně osteoporózy v dospělosti u dětí vitamín D deficientních matek. Dále je možné se domnívat, že v našem souboru námi nezachycený rozdíl v denzitometrii nevylučuje zvýšené riziko osteoporózy v dospělosti ve skupině novorozenců s těžce deficientní hladinou vitamínu D.

Ve skupině A ( $\leq 25 \text{ nmol / l}$ ) došlo od narození do propuštění více než k dvojnásobnému zvýšení hladiny  $25(\text{OH})\text{D}$ . Ve skupině B ( $> 25 \text{ nmol / l}$ ) nedošlo od narození do propuštění prakticky k žádnému zvýšení hladiny  $25(\text{OH})\text{D}$ . Toto zjištění podporuje potřebu vyššího příjmu vitamínu D u nejvíce nezralých novorozenců (v našem případě ve skupině B) k dosažení požadovaných hladin  $25(\text{OH})\text{D}$  ( $> 50 \text{ nmol / l}$ ). Potřeba vyššího dávkování vitamínu D u předčasně narozených dětí může být vysvětlena nezralými funkcemi několika orgánů, jako je

střevo, játra a ledviny (66). K dispozici jsou jen omezené znalosti o klinické důležitosti optimální hladiny vitamínu D, a to zejména u předčasně narozených novorozenců, a stále existuje mnoho kontroverzí. Optimální dávka suplementace vitamínu D pro předčasně narozené děti v časném novorozeneckém období vyžaduje další výzkum.

## **9. Závěry**

### **9.1. Parathormon - referenční meze u novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti a souvislost s dalšími ukazateli kostního metabolismu – pilotní studie**

Předčasně narození novorozenci, zejména ti s extrémně nízkou porodní hmotností, jsou velmi náchylní k rozvoji MBD. V současné době neexistuje „zlatý standard“ pro diagnostiku MBD. Relativně nově zvažovaným markerem pro diagnostiku MBD nedonošených dětí se ukázal být PTH. Na základě výsledků pilotní studie je odhadované fyziologické rozmezí PTH (1.65 – 9.3 pmol/l) pro novorozence s velmi nízkou porodní hmotností velmi blízké referenčnímu rozmezí pro dospělé (1 – 7 pmol/l). Z toho lze vyvozovat, že referenční meze pro PTH u dospělých lze použít také pro hodnocení hladin PTH u předčasně narozených novorozenců. Současně se zdá, že zvýšení PTH nad tyto normy lze považovat za hyperparatyreózu i u předčasně narozených novorozenců. Při prokázané korelaci mezi hladinou PTH a vitamínem D je možné v případě klinického či laboratorního podezření na MBD či hypovitaminózu D preferovat stanovení PTH, i s ohledem na významně nižší cenu vyšetření (1/3 nákladů oproti stanovení 25OHD). A v případě hyperparatyreózy doplnit vyšetření hladiny vitamínu D. V pilotní skupině předčasně narozených novorozenců byl deficit vitamínu D zachycen v 75 % při narození a v 30 % těsně před propuštěním z nemocnice. Účelem dalších studií by jednak mělo být potvrzení tohoto trendu na větší kohortě novorozenců a objasnění potenciálního vlivu takto nízkých hladin vitamínu D na nemocnost a úmrtnost nezralých novorozenců.

### **9.2. Prospektivní observační kohortové studie**

#### ***9.2.1. Stav vitamínu D u matek a jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností při narození (pupečnicková krev) a při propuštění z nemocnice při současném obecně doporučeném dávkování vitamínu D.***

Naše studie prokázala v České republice velmi vysokou prevalenci deficitu vitamínu D u těhotných žen a v pupečnickové krvi jejich novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností. Aktuálně doporučená dávka suplementace vitamínu D 800 IU denně nebyla schopna do

propuštění z nemocnice dosáhnout hladiny vitamínu D nad požadovaných 50 nebo dokonce 75 nmol / l, a to kvůli velmi vysoké prevalenci maternální deficiencie 25(OH)D. Současná výživová doporučení pro předčasně narozené děti nemusí být dostatečně efektivní k dosažení doporučené cílové hladiny vitamínu D > 50 nmol/l, zejména v situaci těžkého deficitu vitamínu D při narození.

### **9.2.2. Laboratorní parametry kostního metabolismu a sledované charakteristiky časné morbidity ve skupině novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. Vitamin D jako rizikový faktor pro syndrom dechové tísně u předčasně narozených dětí.**

V naší prospektivní kohortové studii jsme nezjistili signifikantní rozdíl mezi vybranými parametry minerálového a kostního metabolismu či sledovanými charakteristikami časné nemocnosti při porovnání skupin nezralých novorozenců s hladinou vitamin D  $\leq$  nebo  $>$  25 nmol/l. Hladina vitamínu D v pupečnickové krvi neměla žádnou souvislost s RDS, BPD ani délkou respirační podpory. Předčasný porod nevede ke zvýšenému riziku nízkých hladin 25(OH)D. Při použití mezní hodnoty vitamínu D 25 nmol / l nebyl prokázán vliv na mineralizaci skeletu, BMC a BMD lumbální páteře se mezi skupinami nelišily. Porovnáním skupin nezralých novorozenců s hladinou vitamin D  $\leq$  a  $>$  25 nmol/l jsme neprokázali žádný benefit plynoucí z pupečnickové hladiny vitamínu D  $>$  25 nmol/l.

## **10. Použitá literatura**

1. Matejek T, Navratilova M, Kokstein Z, Palicka V. Metabolic bone disease in prematurity. Ces slov Pediatr. 2015;70(5):303-12.
2. Við Streyms S, Kristine Moller U, Rejnmark L, Heickendorff L, Mosekilde L, Vestergaard P. Maternal and infant vitamin D status during the first 9 months of infant life-a cohort study. Eur J Clin Nutr. 2013;67(10):1022-8.
3. Monangi N, Slaughter JL, Dawodu A, Smith C, Akinbi HT. Vitamin D status of early preterm infants and the effects of vitamin D intake during hospital stay. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2014;99(2):F166-8.
4. Natarajan CK, Sankar MJ, Agarwal R, Pratap OT, Jain V, Gupta N, et al. Trial of daily vitamin D supplementation in preterm infants. Pediatrics. 2014;133(3):e628-34.
5. Parlak M, Kalay S, Kalay Z, Kirecci A, Guney O, Koklu E. Severe vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in Turkey. J Matern Fetal Neonatal Med. 2015;28(5):548-51.
6. Kılıcaslan A, Kutlu R, Kilinc I, Ozberk DI. The effects of vitamin D supplementation during pregnancy and maternal vitamin D levels on neonatal vitamin D levels and birth parameters. J Matern Fetal Neonatal Med. 2017:1-8.
7. Kovacs CS. Bone development in the fetus and neonate: role of the calciotropic hormones. Curr Osteoporos Rep. 2011;9(4):274-83.
8. Saraf R, Morton SM, Camargo CA, Jr., Grant CC. Global summary of maternal and newborn vitamin D status - a systematic review. Matern Child Nutr. 2016;12(4):647-68.

9. Grossman Z, Hadjipanayis A, Stiris T, Del Torso S, Mercier JC, Valiulis A, et al. Vitamin D in European children-statement from the European Academy of Paediatrics (EAP). *Eur J Pediatr.* 2017;176(6):829-31.
10. Zipitis CS, Akobeng AK. Vitamin D supplementation in early childhood and risk of type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child.* 2008;93(6):512-7.
11. Reinholz M, Ruzicka T, Schaubert J. Vitamin D and its role in allergic disease. *Clin Exp Allergy.* 2012;42(6):817-26.
12. Clancy N, Onwuneme C, Carroll A, McCarthy R, McKenna MJ, Murphy N, et al. Vitamin D and neonatal immune function. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(7):639-46.
13. Matejek T, Navratilova M, Zaloudkova L, Malakova J, Maly J, Skalova S, et al. Vitamin D status of very low birth weight infants at birth and the effects of generally recommended supplementation on their vitamin D levels at discharge. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019:1-7.
14. Zosky GR, Hart PH, Whitehouse AJ, Kusel MM, Ang W, Foong RE, et al. Vitamin D deficiency at 16 to 20 weeks' gestation is associated with impaired lung function and asthma at 6 years of age. *Ann Am Thorac Soc.* 2014;11(4):571-7.
15. Whitehouse AJ, Holt BJ, Serralha M, Holt PG, Kusel MM, Hart PH. Maternal serum vitamin D levels during pregnancy and offspring neurocognitive development. *Pediatrics.* 2012;129(3):485-93.
16. Whitehouse AJ, Holt BJ, Serralha M, Holt PG, Hart PH, Kusel MM. Maternal vitamin D levels and the autism phenotype among offspring. *J Autism Dev Disord.* 2013;43(7):1495-504.
17. Hart PH, Lucas RM, Walsh JP, Zosky GR, Whitehouse AJ, Zhu K, et al. Vitamin D in fetal development: findings from a birth cohort study. *Pediatrics.* 2015;135(1):e167-73.
18. Javaid MK, Crozier SR, Harvey NC, Gale CR, Dennison EM, Boucher BJ, et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *Lancet.* 2006;367(9504):36-43.
19. Zhu K, Whitehouse AJ, Hart PH, Kusel M, Mountain J, Lye S, et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res.* 2014;29(5):1088-95.
20. Walker VP, Zhang X, Rastegar I, Liu PT, Hollis BW, Adams JS, et al. Cord blood vitamin D status impacts innate immune responses. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(6):1835-43.
21. Dinlen N, Zenciroglu A, Beken S, Dursun A, Dilli D, Okumus N. Association of vitamin D deficiency with acute lower respiratory tract infections in newborns. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(6):928-32.
22. Camargo CA, Ingham T, Wickens K, Thadhani R, Silvers KM, Epton MJ, et al. Cord-blood 25-hydroxyvitamin D levels and risk of respiratory infection, wheezing, and asthma. *Pediatrics.* 2011;127(1):e180-7.
23. Cetinkaya M, Cekmez F, Buyukkale G, Erener-Ercan T, Demir F, Tunc T, et al. Lower vitamin D levels are associated with increased risk of early-onset neonatal sepsis in term infants. *J Perinatol.* 2015;35(1):39-45.
24. Abrams SA, Nutrition Co. Calcium and vitamin d requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics.* 2013;131(5):e1676-83.
25. Lykkedegn S, Sorensen GL, Beck-Nielsen SS, Christesen HT. The impact of vitamin D on fetal and neonatal lung maturation. A systematic review. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2015;308(7):L587-602.
26. Onwuneme C, Martin F, McCarthy R, Carroll A, Segurado R, Murphy J, et al. The Association of Vitamin D Status with Acute Respiratory Morbidity in Preterm Infants. *J Pediatr.* 2015;166(5):1175-80.e1.
27. Fettah ND, Zenciroğlu A, Dilli D, Beken S, Okumuş N. Is higher 25-hydroxyvitamin D level preventive for respiratory distress syndrome in preterm infants? *Am J Perinatol.* 2015;32(3):247-50.

28. Yang Y, Feng Y, Chen X, Mao XN, Zhang JH, Zhao L, et al. Is there a potential link between vitamin D and pulmonary morbidities in preterm infants? *J Chin Med Assoc.* 2017.
29. Volpe JJ. Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2001;7(1):56-64.
30. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163(7):1723-9.
31. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R, Barton L, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg.* 1978;187(1):1-7.
32. Hay W. TP. Neonatal Nutrition and Metabolism. Cambridge UK: Cambridge University Press; 2006.
33. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50(1):85-91.
34. Boehm G, Wiener M, Schmidt C, Ungethüm A, Ungethüm B, Moro G. Usefulness of short-term urine collection in the nutritional monitoring of low birthweight infants. *Acta Paediatr.* 1998;87(3):339-43.
35. Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Domellof M, Fewtrell M, et al. Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;56(6):692-701.
36. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M, Society DaTCotLWPE. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics.* 2008;122(2):398-417.
37. Saggese G, Vierucci F, Prodam F, Cardinale F, Cetin I, Chiappini E, et al. Vitamin D in pediatric age: consensus of the Italian Pediatric Society and the Italian Society of Preventive and Social Pediatrics, jointly with the Italian Federation of Pediatricians. *Ital J Pediatr.* 2018;44(1):51.
38. Matejek T, Navratilova M, Zaloudkova L, Malakova J, Maly J, Skalova S, et al. Parathyroid hormone - reference values and association with other bone metabolism markers in very low birth weight infants - pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018:1-8.
39. Salle BL, Delvin EE, Lapillonne A, Bishop NJ, Glorieux FH. Perinatal metabolism of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5 Suppl):1317S-24S.
40. Kovacs CS. Bone metabolism in the fetus and neonate. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(5):793-803.
41. Fort P, Salas AA, Nicola T, Craig CM, Carlo WA, Ambalavanan N. A Comparison of 3 Vitamin D Dosing Regimens in Extremely Preterm Infants: A Randomized Controlled Trial. *J Pediatr.* 2016;174:132-8.e1.
42. Anderson-Berry A, Thoene M, Wagner J, Lyden E, Jones G, Kaufmann M, et al. Randomized trial of two doses of vitamin D3 in preterm infants <32 weeks: Dose impact on achieving desired serum 25(OH)D3 in a NICU population. *PLoS One.* 2017;12(10):e0185950.
43. Zsimevich A, Fijałkowska A, Chełchowska M, Maciejewski T. Maternal serum vitamin D and parathormone concentrations during gestation and in umbilical cord blood - pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018;31(2):158-63.
44. O'Callaghan KM, Hennessy A, Hull GL, Healy K, Ritz C, Kenny LC, et al. Estimation of the maternal vitamin D intake that maintains circulating 25-hydroxyvitamin D in late gestation at a concentration sufficient to keep umbilical cord sera  $\geq 25$ -30 nmol/L: a dose-response, double-blind, randomized placebo-controlled trial in pregnant women at northern latitude. *Am J Clin Nutr.* 2018.
45. Tergestina M, Rebekah G, Job V, Simon A, Thomas N. A randomized double-blind controlled trial comparing two regimens of vitamin D supplementation in preterm neonates. *J Perinatol.* 2016;36(9):763-7.



46. Kılıçaslan AÖ, Kutlu R, Kilinc I, Ozberk DI. The effects of vitamin D supplementation during pregnancy and maternal vitamin D levels on neonatal vitamin D levels and birth parameters. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017;1-8.
47. Nandal R, Chhabra R, Sharma D, Lallar M, Rathee U, Maheshwari P. Comparison of cord blood vitamin D levels in newborns of vitamin D supplemented and unsupplemented pregnant women: a prospective, comparative study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2016;29(11):1812-6.
48. Bronsky J, Kalvachova B, Kutilek S, Sebkova A, Skvor J, Sumnik Z, et al. Doporučený postup České pediatrické společnosti a Odborné společnosti praktických dětských lékařů ČLS JEP pro suplementaci dětí a dospívajících vitamínem D. *Čes-slov Pediatr*. 2019;74(8):473-82.
49. Mathur NB, Saini A, Mishra TK. Assessment of Adequacy of Supplementation of Vitamin D in Very Low Birth Weight Preterm Neonates: A Randomized Controlled Trial. *J Trop Pediatr*. 2016;62(6):429-35.
50. Bozkurt O, Uras N, Sari FN, Atay FY, Sahin S, Alkan AD, et al. Multi-dose vitamin d supplementation in stable very preterm infants: Prospective randomized trial response to three different vitamin D supplementation doses. *Early Hum Dev*. 2017;112:54-9.
51. Cho SY, Park HK, Lee HJ. Efficacy and safety of early supplementation with 800 IU of vitamin D in very preterm infants followed by underlying levels of vitamin D at birth. *Ital J Pediatr*. 2017;43(1):45.
52. Joung KE, Burris HH, Van Marter LJ, McElrath TF, Michael Z, Tabatabai P, et al. Vitamin D and bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *J Perinatol*. 2016;36(10):878-82.
53. Shah BA, Padbury JF, Anderson MP, Holick MF, Szyld E, Gordon CM. Vitamin D and associated perinatal-neonatal outcomes among extremely low-birth-weight infants. *J Perinatol*. 2018;38(10):1318-23.
54. Çetinkaya M, Çekmez F, Erener-Ercan T, Buyukkale G, Demirhan A, Aydemir G, et al. Maternal/neonatal vitamin D deficiency: a risk factor for bronchopulmonary dysplasia in preterms? *J Perinatol*. 2015;35(10):813-7.
55. Mohamed Hegazy A, Mohamed Shinkar D, Refaat Mohamed N, Abdalla Gaber H. Association between serum 25 (OH) vitamin D level at birth and respiratory morbidities among preterm neonates. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(20):2649-55.
56. Harrison CM, Gibson AT. Osteopenia in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013;98(3):F272-5.
57. Ataseven F, Aygun C, Okuyucu A, Bedir A, Kucuk Y, Kucukoduk S. Is vitamin d deficiency a risk factor for respiratory distress syndrome? *Int J Vitam Nutr Res*. 2013;83(4):232-7.
58. Park SH, Lee GM, Moon JE, Kim HM. Severe vitamin D deficiency in preterm infants: maternal and neonatal clinical features. *Korean J Pediatr*. 2015;58(11):427-33.
59. Dhandai R, Jajoo M, Singh A, Mandal A, Jain R. Association of vitamin D deficiency with an increased risk of late-onset neonatal sepsis. *Paediatr Int Child Health*. 2018;38(3):193-7.
60. Cetinkaya M, Erener-Ercan T, Kalayci-Oral T, Babayiğit A, Cebeci B, Semerci SY, et al. Maternal/neonatal vitamin D deficiency: a new risk factor for necrotizing enterocolitis in preterm infants? *J Perinatol*. 2017;37(6):673-8.
61. Tayel SI, Soliman SE, Elsayed HM. Vitamin D deficiency and vitamin D receptor variants in mothers and their neonates are risk factors for neonatal sepsis. *Steroids*. 2018;134:37-42.
62. Figueras-Aloy J, Alvarez-Dominguez E, Perez-Fernandez JM, Moretones-Sunol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *J Pediatr*. 2014;164(3):499-504.
63. Yeste D, Almar J, Clemente M, Gussinyé M, Audí L, Carrascosa A. Areal bone mineral density of the lumbar spine in 80 premature newborns: a prospective and longitudinal study. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2004;17(7):959-66.

64. Ichiba H, Shintaku H, Fujimaru M, Hirai C, Okano Y, Funato M. Bone mineral density of the lumbar spine in very-low-birth-weight infants: a longitudinal study. *Eur J Pediatr*. 2000;159(3):215-8.
65. Quintal VS, Diniz EM, Caparbo VeF, Pereira RM. Bone densitometry by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) in preterm newborns compared with full-term peers in the first six months of life. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;90(6):556-62.
66. Zittermann A, Pilz S, Berthold HK. Serum 25-hydroxyvitamin D response to vitamin D supplementation in infants: a systematic review and meta-analysis of clinical intervention trials. *Eur J Nutr*. 2019.

## 11. Přehled činnosti autora

### Publikační činnost:

#### a. Původní vědecké práce v impaktovaném časopise:

- 1) Matejek T., Navratilova M, Zaloudkova L, et al. Vitamin D status of very low birth weight infants at birth and the effects of generally recommended supplementation on their vitamin D levels at discharge. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019 Mar 18:1-7. (*5-Year Impact Factor: 1.601*)
- 2) Matejek T., Navratilova M, Zaloudkova L, et al. Parathyroid hormone - reference values and association with other bone metabolism markers in very low birth weight infants - pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018 Mar 21:1-8. (*5-Year Impact Factor: 1.601*)

#### b. Ostatní vědecké práce v impaktovaném časopise

- 1) Matějtek T., Šenkeříková M., E.Ruszová, J.Malý; Kongenitální centrální hypoventilační syndrom (Ondinina Kletba). *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(2):215-219 (*2015 Impact Factor 0,15*)

#### c. Původní vědecké práce v recenzovaných neimpaktovaných časopisech:

- 1) Hanousková K., Matějková A., Navrátilová M., Matějtek T., Koudelka J., Rejtar P., Kokštein Z., Malý J. Segmentální dilatace střeva – prezentace souboru novorozenců se segmentální dilatací tenkého střeva a přehled literatury. *Čes-slov Pediat* 2015; 70 (3): 135-145
- 2) Dvořák O., Štichhauer R., Šafus A., Matějtek T., Koudelka J., Kokštein Z., Malý J. Nekrotizující enterokolitida v Perinatologickém centru FN Hradec Králové 2010–2017. *Čes-slov Pediat* 2018; 73 (8): 486-488, 489-493. ISSN: 0069-2328; 1805-4501

#### d. Ostatní práce v recenzovaných neimpaktovaných časopisech:

- 1) Matějtek T., Matějková A., Solařová P., Kokštein Z., Malý J. Alveolární kapilární dysplázie s vychýlením plicních žil jako příčina hypoxemického respiračního selhání

donošeného novorozence. Čes-slov Pediat 2014; 69 (5): 295-300

- 2) Matějek T., Navrátilová M., Kokštein Z., Palička V. Metabolické kostní onemocnění při nezralosti – přehledový článek. Čes slov Pediatr. 2015;70(5):303-312.
- 3) Micherová J., Matějek T., Kamarádová K., et al. Nehojící se atopický ekzém. Čes-slov Pediat 2017; 72 (6): 352–360

#### **Přednášky na odborných setkáních:**

- 1) II. Východočeské perinatologické dny, 24. - 25.4.2015, Deštné v Orlických horách. Na co (ne)zapomenout při resuscitaci novorozence.
- 2) III. kongres pediatrie pro praxi, 10. – 11. června 2016, Hradec Králové. Apgar 0 – 0 – 0.
- 3) IV. Východočeské perinatologické dny, duben 2018. Deštné v Orlických horách. Bakteriální infekce u novorozence – aktuální léčebné postupy.
- 4) 3. Dny novorozeneckých kazuistik, březen 2018. Zbiroh. Srdeční tamponáda, akutní uzávěr femorální artérie. Fatální komplikace?
- 5) 14. fakultní konference studentů doktorského studia, 22.10.2018. Výukové centrum LF a FN Hradec Králové. Vitamin D status of very low birth weight infants at birth and the effects of generally recommended supplementation on their vitamin D levels at discharge.
- 6) V. Východočeské perinatologické dny, březen 2019. Deštné v Orlických horách. Současný stav hladiny vitamínu D v populaci těhotných žen a jejich nezralých novorozenců.
- 7) VI. kongres Pediatrie pro praxi v Hradci Králové, Nové Adalbertinum, 31. 5. – 1. 6. Kongenitální chylothorax a lymfédém levé horní končetiny. Raritní projev Tuberózní sklerózy.
- 8) XIV. Pediatrický kongres s mezinárodní účastí, 26.9.2019 - 28.9.2019. Olomouc. Současný stav hladiny vitamínu D v populaci těhotných žen a jejich nezralých novorozenců.

#### **Plakátová sdělení na odborných setkáních:**

- 1) Matějek T. Využití odpadů vápníku a fosforu do moči k optimalizaci výživy novorozenců velmi nízké porodní hmotnosti. XXX. Neonatologické dny, Praha, 8.-10.10.2014. Neonatologické listy. 2014, roč. 20, č. 2, s. 41-42. ISSN: 1211-1600.
- 2) Matějek T., Navrátilová M., Žaloudková L., Maláková J., Malý J., Skalova S., Palička V. Současný stav vitamínu D u novorozenců s velmi nízkou porodní hmotností. XXXV. Neonatologické dny, Olomouc, 6. - 8. listopadu 2019