

Univerzita Karlova

2. lékařská fakulta

Studijní program: Biochemie a patobiochemie



MUDr. Iva Burianová

Kvantifikace makrokomponent mateřského mléka matek po předčasném porodu
v závislosti na gestačním a postnatálním stáří dítěte

Quantification of macronutrients in human milk after premature birth depending
on the gestational and postnatal age of infant

Dizertační práce

Školitel:

Doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D.

Pediatrická klinika

UK 2.LF a FN Motol, Praha

Praha, 2021

OBSAH

Poděkování	4
Prohlášení o samostatném zpracování disertační práce	5
Seznam zkratk	6
1. Cíle práce a stanovení hypotéz	7
2. Přehled současného stavu znalostí	8
2.1. Strategie výživy nedonošených novorozenců	8
2.2. Enterální výživa mateřským mlékem	13
2.3. Dárcovské mateřské mléko	15
2.4. Postnatální růstová restrikce a její vliv na dlouhodobý vývoj	17
2.5. Fortifikace mateřského mléka a koncept "individuálně cílené" výživy	21
2.6. Druhy fortifikátorů mateřského mléka	24
2.6.1. Monokomponentní fortifikace	24
2.6.2. Multikomponentní fortifikace	25
2.7. Způsoby dávkování fortifikátoru mateřského mléka	25
2.7.1. Standardní fortifikace MM	25
2.7.2. Individualizovaná fortifikace MM	26
2.7.2.a. Nastavitelná/Adjustovaná fortifikace	26
2.7.2.b. Cílená fortifikace	26
2.8. Možnosti cílené fortifikace s využitím analýzy MM infračervenou spektroskopií	28
2.8.1. Princip infračervené spektroskopie	29
2.8.2. Analyzátor MIRIS HMA	31
2.8.3. Studie sledující přesnost IR analyzátorů včetně MIRIS HMA	34
3. Úvod k vlastní vědecké práci	36
4. Metodika	36

4.1. Soubor pacientů a sběr vzorků	36
4.2. Laboratorní analýza	38
4.3. Statistická analýza	38
4.4. Informovaný souhlas a schválení etické komise	40
5. Výsledky	40
5.1. Projekt č.1 - Stanovení obsahu makronutrientů v MM v prvních 2 měsících po předčasném porodu metodou infračervené spektroskopie a porovnání rozdílů ve složení mateřského mléka vzhledem k míře nedonošenosti	40
5.2. Projekt č.2 - Asociace mezi některými mateřskými charakteristikami a obsahem základních makronutrientů mateřského mléka po předčasném porodu	48
5.2.1. Kolostrum	52
5.2.2. Zralé mléko	55
5.2.2.1. Bílkovina	56
5.2.2.2. Sacharidy	57
5.2.2.3. Tuky	58
5.2.2.4. Energie	60
6. Diskuze	61
6.1. Bílkoviny	61
6.2. Sacharidy	62
6.3. Tuky	63
6.4. Přínos projektu č.1 a klinická aplikace výsledků	64
6.5. Vztah mezi mateřskými charakteristikami a obsahem základních nutrientů	66
6.5.1. Vztah mezi nutričním stavem, resp. BMI matky a obsahem základních nutrientů	66
6.5.2. Vztah mezi paritou a obsahem základních nutrientů	67
6.5.3. Vztah mezi věkem matky a obsahem základních nutrientů	68
6.5.4 Vztah mezi způsobem porodu a obsahem základních nutrientů	69
6.5.5. Vztah mezi nikotinismem matky a obsahem základních nutrientů	70

6.5.6. Vztah mezi výživou matky a obsahem základních nutrientů	71
6.5.7. Přínos projektu č.2 a klinická aplikace výsledků	72
6.6. Limitace studie	73
7. Závěr	74
8. Souhrn	76
9. Summary	77
10. Použitá literatura	78
11. Seznam publikací	91
11.1. Původní práce a články v časopisech s definovaným impakt faktorem	91
11.2. Ostatní články, přednášky, spoluautorství a postery	92
12. Přílohy	97

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala za velkou podporu a trpělivé vedení v průběhu celého studia svému školiteli Doc.MUDr. Jiřímu Bronskému, PhD. Také bych ráda poděkovala MUDr. Janu Malému, PhD. za nápady, trvalou a kamarádskou spolupráci, MUDr. Veronice Vítkové za velkou pomoc při analýzách. Mgr. Markétě Pavlíkové za pomoc při analýze a zpracování statistické části a RNDr. Martinu Polčíkovi, PhD. za cenné rady týkající se přípravy článků. Chtěla bych vyjádřit díky také všem, kteří mi pomohli se sběrem vzorků mateřského mléka. Za podporu během celého studia děkuji také svým dětem.

PROHLÁŠENÍ O SAMOSTATNÉM ZPRACOVÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci na téma Kvantifikace makrokomponent mateřského mléka matek po předčasném porodu v závislosti na gestačním a postnatálním stáří dítěte zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu. Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 31.1. 2021

Iva Burianová

Podpis

SEZNAM ZKRATEK

AAP	Americká pediatriká akademie (the American Academy of Pediatrics)
AGA	eutrofický novorozenec (appropriate for gestational age)
BMF	fortifikátor mateřského mléka (breast milk fortifier)
CI	interval spolehlivosti (confidence interval)
ELBW	novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností (extremely low birth weight)
EMBA	Asociace evropských mléčných bank (the European Milk Bank Association)
ESPGHAN	Evropská společnost pro pediatrikou gastroenterologii, hepatologii a výživu (the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition)
EUGR	postnatální růstová restrikce (extrauterine growth restriction)
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FBM	tuková tělesná tkáň (Fat Body Mass)
GIT	gastrontestinální trakt
GT	gestační věk (gestační týden)
HMA	analyzátor mateřského mléka (Human Milk Analyzer)
IQR	mezikvartilové rozpětí (interquartile range)
IUGR	intrauterinní růstová restrikce (intrauterine growth restriction)
IVF	in vitro fertilizace
LBM	tělesná tkáň bez tukové tkáně (lean body mass)
LDL	lipoproteiny s nízkou hustotou (low density lipoprotein)
MM	mateřské mléko
NEC	nekrotizující enterokolitida (necrotizing enterocolitis)
RR	relativní riziko (risk ratio)
SC	císařský řez
SGA	hypotrofický novorozenec (small for gestational age)
VLBW	novorozenci s velmi nízkou porodní hmotností (very low birth weight)
WAPM	Světové asociace perinatálního lékařství (the World Association of Perinatal Medicine)
WHO	Světová zdravotnická organizace (the World Health Organization)

1. CÍLE PRÁCE A STANOVENÍ HYPOTÉZ

Cíl studie:

1. Stanovit obsah makronutrientů v mateřském mléce v prvních 2 měsících po předčasném porodu metodou infračervené transmisní spektroskopie
2. Porovnat rozdíly ve složení mateřského mléka vzhledem k míře nedonošenosti dítěte
3. Určit, zda některé mateřské charakteristiky jsou asociovány s obsahem základních makronutrientů mateřského mléka po předčasném porodu

Základními hypotézami projektu jsou tyto:

1. Stupeň nezralosti novorozence je asociován s obsahem základních makronutrientů v mateřském mléce
2. V postnatálním období dochází ke změnám obsahu makronutrientů
3. Obsah některých makronutrientů je v mateřském mléce po předčasném porodu nízký
4. Složení mateřského mléka je asociováno s některými charakteristikami (paritou, věkem, způsobem porodu, hmotností/BMI aj.) matky

2. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU ZNALOSTÍ

2.1. Strategie výživy nedonošených novorozenců

V současné době se enterální výživa nedonošených novorozenců zahajuje co nejdříve, nezralost dítěte není její kontraindikací. Pro stabilního nedonošeného novorozence je enterální výživa (enteral nutrition, EN) indikována již od 1. dne. Pokud se jedná o novorozence z kategorie ELBW (novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností, s porodní hmotností pod 1000g), nebo novorozence, který prošel závažnou intrauterinní růstovou restrikcí (IUGR), o novorozence po těžké perinatální asfyxii, nebo je dítě výrazně oběhově a ventilačně nestabilní, zahajuje se enterální výživa tzn. primingem s nutnou doplňující parenterální výživou. Priming (minimal enteral nutrition, MEN, trofické krmení) je koncipován jako podávání mléka v objemu do 20 ml/kg/den, objem se nenavýšuje 1-2 dny nebo i déle podle klinického stavu dítěte. Priming se má zahajovat mateřským mlékem (MM) od vlastní matky nebo mlékem z banky/sběrny MM. V době primingu se stav dítěte stabilizuje a ověřuje se tolerance EN. Priming je důležitý především pro stimulaci vývoje nezralého gastrointestinálního traktu (GIT) a časnou kolonizaci střeva, současně zajišťuje dostatečný nutriční substrát pro nezralou sliznici GIT. Ostatní benefity primingu jsou uvedeny v tabulce č. 1. (Bombell, 2011). Při nedostatku MM se podává umělá výživa (formule) speciálně designovaná pro nezralé novorozence, tzv. preterm formule. Všechny tyto modalities se zahrnují pod pojem enterální výživa.

Tabulka č.1 Klinické přínosy primingu (trofického krmení)

Stimulace vývoje nezralého GIT
Nutriční substrát pro nezralou sliznici GIT
Lepší tolerance p.o. stravy
Rychlejší zrání intestinální motility
Zvýšená aktivita laktázy
Vyšší sérové hladiny gastrointestinálních hormonů
Snížené riziko pozdní sepse
Nižší výskyt konjugované hyperbilirubinémie

Upraveno podle Bombell 2011

Zkratky: GIT = gastrointestinální trakt

Parenterální výživa (parenteral nutrition, PN) by měla zajistit adekvátní intravenózní příjem všech základních živin (sacharidů, bílkovin, tuků) vitaminů, minerálů a stopových prvků tak, aby zabezpečila metabolické nároky a přiměřený růst dítěte do převedení na plnou EN. Indikace pro zahájení PN se v posledních několika letech několikrát změnila, podle výsledků observačních a intervenčních studií je indikací pro zahájení PN novorozenec s porodní hmotností (PH) pod 1500 gramů. Novorozenec v pásmu hmotnosti PH 1500 - 1750 g je indikován pro PN dle klinického stavu, tolerance p.o. stravy a glykémie. PN je také nutná v situaci, kdy EN není možná nebo je kontraindikovaná: narušená průchodnost nebo integrita GIT, závažná oběhová a ventilační nestabilita, NEC (nekrotizující enterokolitida), ileózní stav, pooperační stavy a při excesivních ztrátách (průjmovitá a frekventní stolice, masivní gastroezofageální reflux, ztráty stolií atd.). Recentně jsou užívány pro PN systémy all-in-one, kdy jednotlivé složky PN (bílkoviny, tuky, sacharidy, vitaminy, minerály a stopové prvky) jsou dodány za sterilních podmínek v daném objemu do plastických vaků (obrázek č.1). Výhodou

je menší spotřeba materiálu, správné hygienické a technické zajištění přípravy, snížené riziko bakteriálních kontaminace.

Obrázek č.1 Vak s parenterální výživou - systém all-in-one



zdroj: z archivu autora

Rychlé navyšování EN bylo v minulosti považováno za rizikové pro vznik NEC. Dříve se nedonošené děti ponechávaly v prvních dnech pouze na PN a EN se zahajovala 2.-3. den života s velmi pomalým navyšováním. Důležitým momentem byla publikace metaanalýzy v roce 2012 sledující riziko pomalého a rychlého navyšování EN pro novorozence s velmi nízkou porodní hmotností, tzn. s hmotností pod 1500g (Very low birth weight, VLBW) (Morgan, 2015). Studie zahrnuté v metaanalýze porovnávaly pomalé navyšování mléka o 15 - 25 ml/kg/den a rychlé navyšování o 30 - 40 ml/kg/den. Autoři neprokázali statisticky signifikantní rozdíl v riziku vzniku NEC (risk ratio, RR 1,02, 95% CI 0,64 až 1,62), ani neprokázali zvýšenou mortalitu těchto dětí (RR 1,18, 95% CI 0,90 až 1,53). Pomalé navyšování naopak prodloužilo dobu k dosažení plné EN o 1-5 dní a navýšilo riziko invazivní infekce (RR 1,46, 95% CI 1,03

až 2,06) (Morgan, 2015). Pozitivní klinické přínosy časného zahájení krmení u předčasně narozených dětí byly publikovány v řadě intervenčních studiích (Oddie, 2017). Současná strategie výživy nedonošených dětí se tedy opírá o časné zahájení EN (optimálně již v prvních hodinách života) a následně v rychlém navyšování stravy o 20-35 ml/kg/den podle váhové kategorie novorozence. Pokud byla indikována PN, rychlost PN se postupně snižuje. Ukončení se provádí v době, kdy dítě již toleruje EN v dávce ≥ 100 -120 ml/kg/den, příjem glukózy se se v PN pozvolna snižuje - prevence hypoglykémie (rebound fenomén). Nastupuje fáze plné EN 120 - 180 ml/kg/den (celkový denní objem stravy je zvolen podle klinického stavu dítěte). Energetické (kalorické) požadavky na dosažení optimálního růstu se kalkulují z odhadovaných výdajů na bazální energii (BE) a energetických požadavků na aktivitu dítěte (včetně krmení), termoregulaci, ztráty stolicí, růst. U novorozenců s chronickým onemocněním, jako je bronchopulmonální dysplazie (BPD), mohou být energetické požadavky ještě vyšší v důsledku zvýšené BE a zvýšené dechové práce (Weinstein, 1981; Yunis 1989, Ziegler, 1981).

Doporučený enterální příjem makronutrientů a mikronutrientů pro nedonošené děti byl během posledních několika let několikrát revidován (Agostoni, 2010). Odborná komise Evropské společnosti pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN Committee on Nutrition) v roce 2010 publikovala doporučený denní příjem pro nedonošené děti, který je ve shodě s dalšími světovými doporučeními. Vhodný enterální příjem pro určitý nutrient byl odhadnut ze stanovené rychlosti nitroděložní akrece a z odhadu denních ztrát močí, stolicí, kůží, současně byla zohledněna biologická dostupnost (čistá absorpce) živin - viz tabulka č. 2.

Tabulka č.2 Doporučený denní enterální příjem pro nedonošené děti do hmotnosti 1800 gramů (doporučení ESPGHAN Committee on Nutrition, JPGN 2010)

	příjem/kg/den	příjem /100 kcal
Tekutiny (ml)	135 – 200	
Energie (kcal)	110 – 130	
Proteiny (g)	4,0 – 4,5	3,6 – 4,1
pro hm. < 1kg		
Proteiny (g)	3,8 – 4,4	3,2 – 3,6
pro hm. 1 – 1,8kg		
Sacharidy (g)	11,6 – 13,2	10,5 – 12
Tuky (g) (MCT < 40%)	4,8 – 6,6	4,4 – 6,0
Na (mg)	69 – 115	63 – 105
K (mg)	66 – 132	60 – 120
Cl (mg)	105 – 177	95 – 161
Ca (mg)	120 – 140	110 – 130
P (mg)	60 – 90	55 – 80
Mg (mg)	8 – 15	7,5 -13,6
Fe (mg)	2 – 3	1,8 – 2,7
Zn (mg)	1,1 – 2,0	1,0 – 1,8
Cu (mg)	100 – 132	90 – 120
Vitamin B1 (µg)	140 – 300	125 – 275
Vitamin B2 (µg)	200 – 400	180 – 365
Vitamin B3 (µg)	380 – 5500	345 – 5000
Vitamin B5 (mg)	0,33 – 2,1	0,3 – 1,9
Vitamin B6 (µg)	45 – 300	41 – 273

Vitamin B12 (µg)	0,1 – 0,77	0,07 – 0,7
Kyselina listová (µg)	35 – 100	32 – 90
Vitamin C (mg)	11 – 46	10 – 42
Vitamin A IU (µg)	1332 – 3330	1199 – 2464
Vitamin D (IU/den)	800 – 1000	
Vitamin E (mg)	2,2 – 11	2 – 10
Vitamin K1 (µg)	4,4 -28	25

Legenda: Vitamin B1 (thiamin), Vitamin B2 (riboflavin), Vitamin B3 (niacin, nikotinamid), Vitamin B5 (kyselina pantothenová), Vitamin B6 (pyridoxin), Vitamin B12 (kobalamin), Vitamin C (askorbová kyselina), Vitamin A (retinoidy), Vitamin D (kalciferol), Vitamin E (tokoferol), Vitamin K (fyllochinon)

2.2. Enterální výživa mateřským mlékem

Mateřské mléko (MM) je podle současných poznatků je optimální výživou nejen pro novorozence narozené v termínu, ale také pro předčasně narozené děti (Lönnnerdal, 2016; Koletzko, 2016; Hernell, 2016; Bode, 2015; Quigley, 2019). Jeho nutritivní a nenutritivní složky zásadním způsobem ovlivňují adekvátní hmotnostní přírůstky, svojí komplexností se podílí i na maturaci nezralého centrálního nervového systému, stimulují a edukují imunitní systém a urychlují zrání GIT (AAP, 2012; Agostini, 2010; Underwood, 2013). MM je unikátní výživový a normativní standard pro kojeneckou výživu s velmi dobrou biologickou dostupností (Eidelman, 2012; Victora, 2016). Obsahuje hormonální a enzymatické složky, antiinfekční faktory, trofické a růstové faktory, kmenové buňky, prebiotika a probiotika a velké množství bioaktivních složek.

Pro výživu, ale především edukaci nezralého imunitního systému nedonošených dětí je důležité zmínit i benefit kolostra (mleziva), které se tvoří v prvních 5-7 dnech. Kolostrum matek předčasně narozených dětí obsahuje vysoké koncentrace imunitních faktorů, především sekrečního IgA a laktoferinu (Dvorak, 2003; Trend, 2016; Koenig, 2005; Lee, 2015). Včasná expozice kolostrem je v současné době považována za nedílnou součást časné enterální výživy. Aplikace kolostra na bukalní sliznici poskytuje předčasně narozeným novorozencům časnou a fyziologickou kolonizaci GIT (Nasuf, 2018). Kolostrum podané v prvních dnech může ovlivnit perorální mikrobiom stimulací lymfatické tkáně a modulací bakteriální adheze (Rodriguez, 2010; Sohn, 2016). Někteří autoři popisují po aplikaci kolostra do dutiny ústní ovlivnění bakteriální kolonizace trachey u intubovaných novorozenců a možnosti snížit riziko respiračních infekcí (Rodriguez, 2010). Vzhledem ke složení a objemu kolostra podávaného v prvních dnech nedonošeným novorozencům je nutriční význam menší, podle objemu je kolostrum ev. doplňováno dárčovským mateřským mlékem (DMM). Složení a rozdíl v základních makronutrientech mezi MM a kolostrem je popsáno v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3 Složení MM a kolostra

/100ml	Kolostrum	Zralé MM
Energie (kcal)	50-67	60-75
Laktóza (g)	2,0	3,5
Bílkovina (g)	3,2	1
Tuk (g)	1,2	3,8

Zdroj: EB Care for Breastfeeding Mothers, 2011

Zkratky: MM = mateřské mléko

Předčasně narozeným novorozencům na jednotkách intenzivní péče (JIP) poskytuje MM ochranu před nejzávažnějšími komplikacemi jako je NEC a sepse, které jsou zatíženy

velkou mortalitou a morbiditou. Mortalita při NEC se ve skupině VLBW pohybuje od 10 % do 50 %, sepse má mortalitu u nedonošených až 50 %, pokud není včas léčena (Quigley, 2019; Maffei, 2017; Arslanoglu, 2013; Corpeleijn, 2012; Meinzen-Derr, 2009; Schanler, 2005; Sullivan, 2010). Pozitivní efekt MM na snížení úmrtnosti a rizika vzniku NEC je „dose dependent“ - závislý na denní dávce (Meinzen-Derr, 2009). Výživa MM je také asociována s nižším rizikem vzniku retinopatie nedonošených (ROP) (Maayan-Metzger, 2012; Hylander, 2001; Bharwani, 2016) a s nižší incidencí BPD (Spiegler, 2016; Dicky, 2017). Z dlouhodobého aspektu je výživa MM spojována s pozitivním vlivem na neurokognitivní vývoj (Rozé, 2012; Vohr, 2007; Lechner, 2017). MM se uplatňuje i v prevenci hypertenze a ischemické choroby srdeční v dospělosti (Arslanoglu, 2013). Častým problémem na JIP a intermediárních odděleních je ale nedostatek vlastního MM, protože laktace u matek po předčasném porodu je často nedostatečná nebo opožděná. Proto se posiluje význam dárcovského pasterizovaného mateřského mléka (DMM) (Asztalos, 2018).

2.3. Dárcovské mateřské mléko

Americká pediatrická akademie (AAP, 2019) doporučuje DMM jako preferovanou strategii výživy předčasně narozených dětí, pokud mléko vlastní matky není k dispozici. Nutriční složení DMM se liší od nativního MM z mnoha důvodů, které se týkají ošetření DMM a nutné manipulace s DMM. Britská studie hodnotila 14 studií sledujících složení nativního MM a DMM, autoři čerpali z Databáze PubMed, CINAHL a Scopus (články publikované v letech 1985 až 2019) (Perrin, 2017). Obsah tuku a energie v DMM se průměrnými hodnotami trvale pohyboval pod referenčními hodnotami očekávanými pro MM. Nedostatkem této práce bylo zařazení studií založených na různých analytických metodách, což mohlo ovlivnit přesnost srovnání mezi studiemi (Perrin, 2017). Na riziko nízkého obsahu nutrientů a energie upozornila i americká studie z roku 2013, která analyzovala dárcovské MM z mateřských bank v USA

(Cooper, 2013). Profesor Cooper v závěru práce uvádí, že i při větším enterálním příjmu DMM (180 ml/kg/den) by nedonošenému dítěti v 66% vzorků mléka nebyl dodán doporučený příjem energie, 39% vzorků DMM by ani po fortifikaci mléka nesplnilo doporučený obsah bílkoviny. Dodržení doporučovaného příjmu základních nutrientů při výživě DMM je komplikováno i faktem, že pro složení MM je typická inter a intraindividuální variabilita mezi matkami, která se týká všech základních nutrientů, především obsahu tuků. Dokrmování DMM z mléčné banky tedy může navodit nebo prohloubit bílkovinný a energetický deficit (Saarela, 2005, Wojcik, 2009; Cooper, 2013; Bauer, 2011; Zachariassen, 2013; Gidrewicz, 2014).

Zdravotní benefit DMM je ale pro nedonošené novorozence významný, při porovnání DMM s umělou výživou (formulí) byl potvrzen v několika metaanalýzách. Studie prokázaly, že i pasterizované MM dárkyň poskytuje ochranu proti NEC a novorozeneckým sepsím (Quigley, 2019). V metaanalýze z roku 2019 bylo zažazeno 1879 novorozenců. Soubor dětí na umělé výživě měl vyšší hmotnostní přírůstky v době hospitalizace - [mean difference (MD) 2.58 (95 % confidence interval (CI) 1.98 to 3.71) g/kg/den], vyšší délkové přírůstky v době hospitalizace [MD 1.93 (95 % CI 1.23 to 2.62) mm/týden]. Skupina s umělou výživou měla vyšší riziko vzniku NEC: relativní riziko (RR) 1,87, (95 % CI 1,23 až 2,85); rozdíl v riziku (RD) 0,03, (95 % CI 0,01 až 0,05). Umělá výživa ani DMM neovlivnily hmotnostní a délkové přírůstky po propuštění a nebyl prokázán rozdíl mezi oběma skupinami ve výsledcích psychomotorických testů (Quigley, 2019). Dalším benefitem DMM je lepší tolerance enterální výživy podobně jako je tomu u nativního MM (Hoban, 2019, Arslanoglu, 2013). Použití DMM a možnost využívat banku mateřského mléka je asociována s nižším rizikem převedení dítěte na umělou výživu během prvních týdnů po porodu. Společnost ESPGHAN, AAP a EMBA / ESPGHAN / AAP Joint Meeting Consensus ve svých nejnovějších dokumentech uvedly, že MM od vlastní matky je první volbou, není-li vlastní MM k dispozici, především v prvních dnech po porodu, kdy laktace teprve nastupuje, mělo by být upřednostněno pasterizované

DMM. Pouze v případě, že dané pracoviště nevlastní banku ani sběrnou MM, je možné použít formuli (Arslanoglu, 2019; Moro, 2015).

2.4. Postnatální růstová restrikce (EUGR) nedonošených dětí a postnatální neurologický vývoj

Nedonošení novorozenci narození na začátku třetího trimestru jsou z pohledu nutrice hendikepováni ve srovnání s termínovými dětmi, protože placentární přenos živin ale i nenutritivních bioaktivních látek je předčasně ukončen. PN a EN příjem makro a mikronutrientů často z mnoha důvodů nesplňuje denní požadavky (Horbar, 2015). Nezralým novorozencům chybí dostatečné endogenní zásoby nutrientů a bioaktivních látek pro postnatální období, které je charakteristické pro tuto populaci rychlým a dynamickým růstem s velkými nároky na energii a nutrienty. Současné definice EUGR jsou různé. EUGR lze klasifikovat jako hmotnost v daném čase pod 10. percentilem nebo jako úbytek hmotnosti mezi narozením a daným časem větším než 1 směrodatná odchylka (SD). Nejčastěji se dynamika prospívání sleduje od narození do 36. gestačního týdne nebo do věku při propuštění.

Profesor Ehrenkrantz v roce 1999 jako první poukázal na problematiku nedostatečně vedené výživy nedonošených dětí s porodní hmotností pod 1500g, která je spojena nejen se zpomalením rychlosti růstu, ale i s psychomotorickým zaostáváním (Ehrenkrantz, 1999). Růstová restrikce zpomaluje vývoj centrálního nervového systému (CNS) ve smyslu narušené neuronální migrace, opožděné myelinizace a synaptogeneze (Ehrenkrantz, 2006; Isaacs, 2009). V sledovaném souboru 1660 dětí z kategorie VLBW se většina nenošených dětí (98%) propadla v hmotnostním percentilovém grafu (medián porodní hmotnosti referenčního plodu stejného postmenstruačního věku) o jednu až dvě SD a do propuštění z porodnice se většina dětí na svůj původní hmotnostní percentil, který byl stanoven při narození, nevrátila (Ehrenkrantz, 1999). Důvodem EUGR je skutečnost, že PN a EN musí splnit vysoké a poměrně variabilní výživové

požadavky během hospitalizace, což je často neproveditelné (vysoká osmolalita roztoků PN, intolerance stravy, poruchy pasáže GIT, gastrozofageální reflux (GER), poruchy koordinace dýchání, sání a polykání, intolerance rychlého navyšování p.o. stravy). Negativní vliv EUGR na následný psychomotorický vývoj demonstrovala řada prací, nejčastěji je citovaná starší multicentrická studie, ve které byli novorozenci s PH 500-1000 gramů rozděleni do kvartilů podle dynamiky růstu. Proměnné faktory pro logisticko-regresní modely zahrnovaly pohlaví, rasu, gestační věk, vzdělání matky, těžké intraventrikulární krvácení, periventrikulární leukomalacie, postnatální věk při dosažení porodní hmotnosti a incidenci vážných onemocnění (NEC, sepse, BPD). Ze souboru 600 původně nedonošených novorozenců 83 % dětí bylo hodnoceno ve follow-up sledování (od propuštění z porodnice do 22 měsíců korigovaného věku). Vyšší přírůstky hmotnosti byly asociovány se signifikantně nižším výskytem mozkové obrny, nižším počtem dětí s Mentálním vývojovým indexem (MDI) <70 (test Bayley II) nebo s Psychomotorickým vývojovým indexem (PDI) <70 (test Bayley II), s nižším rizikem neurovývojového postižení a s menším počtem rehospitalizací. Podobný efekt byl pozorován při posuzování dynamiky růstu obvodu hlavy (Ehrenkranz, 2006, Cormack, 2019). Existuje silná korelace mezi obvodem hlavy, objemem mozku a neurologickým vývojem u VLBW (Kan, 2008; Leppanen 2014; Sammallahti, 2014). Především vyšší příjem bílkovin v prvním měsíci po narození je spojován se adekvátním růstem obvodu hlavy při propuštění a s lepšími výsledky v kognitivních testech v rámci dlouhodobého sledování (Franz, 2009, Coviello, 2017; Isaacs, 2009; Stephens 2009; Stoltz Sjostrom, 2013). Klíčovým a modifikovatelným faktorem pro zlepšení psychomotorického vývoje u dětí s VLBW a ELBW je tedy adekvátní růst dítěte, zejména růst hlavy, a to prostřednictvím optimálního příjmu živin v raném neonatálním období. Intervenční studie porovnávající vyšší a nižší příjem bílkovin poukazují na pozitivní efekt vyššího příjmu bílkovin jak parenterální, tak enterální cestou na růst dítěte (Leenders, 2018; Senterre, 2012). Autoři hodnotili i vliv nutričního deficitu, který kumuloval v prvních

postnatálních týdnech. Deficit byl významný v obou skupinách (VLBW, ELBW), kumulace deficitu bílkovin během prvního týdne byla určujícím faktorem pro růst v dalších 6 týdnech života. Pro neonatology se významným bodem stalo používání speciálních růstových křivek pro ELBW a VLBW, které byly konstruovány k časně identifikaci EUGR (Ehrenkranz RA, 1999; Diekmann, 2005; Watkins, 2020). Růstové parametry se nyní sledují na genderově specifických růstových křivkách pro předčasně narozené děti (Fenton, 2013; Olsen 2010). Autoři růstových grafů použili pokročilé matematické modely, které umožnily výpočet přesných Z-skóre a centilů. Při monitoraci růstu dítěte je snahou neonatologů udržet tempo růstu nedonošeného dítěte nad 10. percentilem (viz Příloha č.1). Hodnocení prospívání a adekvátní nutrice předčasně narozeného dítěte tedy vyžaduje kromě pravidelného hodnocení příjmu tekutin, energie a živin i pravidelný monitoring rychlosti růstu. Časový harmonogram sledování rychlosti růstu je uveden v tabulce č.4 (Ehrenkranz, 1999; Fenton 2018).

Tabulka č. 4 Časový harmonogram sledování dynamiky růstu nedonošeného dítěte do termínu zralosti (do 38.gestačního týdne)

Hmotnost se hodnotí 1x/den	15-20 g/kg/den do 2 kg hmotnosti
	20-30 g/den od 2 kg hmotnosti
Délka se hodnotí 1x/týden	průměrný přírůstek 1 cm/ týden
Obvod hlavy se hodnotí 1x/týden	průměrný přírůstek 0,7-1 cm/týden

Při hodnocení růstu je nutné si uvědomit, že dynamika není konstantní a výše uvedené přírůstky nemusí být splněny po určitou omezenou dobu. Období pomalejšího růstu, které se vyskytuje během infekce nebo přechodné intolerance enterální výživy, často kompenzují

periody zrychleného růstu tzv. catch-up růst (Griffin, 2016). Samotný trofický stav dítěte při narození má zřejmě menší vliv na psychomotorický vývoj než rychlost postnatálního růstu (Latal-Hajnal, 2003; Peila, 2020; Cormack, 2019). Jedna ze studií hodnotících EUGR sledovala soubor 219 nedonošených dětí VLBW (<1250 g). 94 dětí bylo hypotrofických (SGA-small for gestational age), tzn. s PH <10. percentilem v růstovém grafu. 125 dětí bylo eutrofických (AGA-appropriate for gestational age), tzn. s PH v pásmu mezi 10.-90. percentilem. Ve věku 2 let byly soubory dětí zhodnoceny vývojovými testy podle testu Bayley II, hodnotil se Mental Developmental Index (MDI), Psychomotor Developmental Index (PDI) při standardizovaném neurologickém vyšetření. Hypotrofie (SGA status) nebyla spojena s opožděným neurovývojem ani po korekci na další proměnné včetně mozkové obrny. SGA děti s hmotností <10. percentil ve věku 2 let měly nižší průměrný PDI než SGA děti s adekvátním catch-up růstem (89,9 versus 101,8; $p < 0,001$). Eutrofické děti s catch-down růstem (hmotnost <10. percentil ve věku 2let) měly nižší průměrný vývojový index MDI (94,9 vs 101,7, $p = 0,05$) a PDI (81,9 vs 95,1; $p < 0,001$) než děti eutrofické, které si růst udržely nad 10. percentilem (Latal-Hajnal, 2003). Tato práce spolu s ostatními studiemi prezentovala větší důležitost udržení adekvátního růstu pro psychomotorický outcome v porovnání s trofickým stavem dítěte při narození (Ehrenkranz, 2006). Současná pozornost se zaměřuje nejen na dynamiku prospívání původně nedonošených, ale také na adekvátní složení těla, pomocí pletyzmografie nebo duální energetické rentgenové absorpciometrie se stanovuje zastoupení svalové (lean body mass, LBM) a tukové tkáně (fatty body mass, FBM) včetně kostní denzity v rámci dlouhodobého sledování (Figueras-Aloy J, 2013).

2.5. Fortifikace mateřského mléka a koncept "individuálně cílené" výživy

Mateřské mléko poskytuje jasný benefit ve smyslu krátkodobého i dlouhodobého zdraví (Eidelman, 2012; Victora, 2016). Nicméně pokud vycházíme z předpokladu, že by měla dynamika růstu nedonošeného dítěte z kategorie ELBW a VLBW napodobovat růst intrauterinní, potom by měl dosáhnout příjem energie 110–130 kcal/kg/den (pro ELBW 130–150 kcal/kg/den) s příjmem bílkovin 3,8–4,4 g/kg/den (pro ELBW 4–4,5 g/kg/d), což by znamenalo navýšení denního objemu MM na 190–200 ml/kg/den i více. Takový příjem je pro nedonošeného novorozence buď nedosažitelný (pro funkční a mechanickou nezralost GIT, intoleranci stravy) nebo nevhodný (objemové přetížení při perzistující tepenné dučejí či známkách BPD). Aby se zabránilo postnatální růstové restrikci, je nezbytné obohacení/fortifikace MM živinami (Ziegler, 2014; Radmacher, 2017; Hay, 2016; Senterre, 2012). Cílem fortifikace MM je zvýšit koncentraci živin na úroveň, která by při doporučených objemech mléka (135–180 ml/kg/d) splňovala nutriční požadavky (Ziegler, 2011). Takto upravený definovaný příjem odvozený z metabolických studií umožňuje dítěti růst podobným tempem jako plod „in utero“ (Ziegler 2011; Ziegler 2014). Nutriční příjem se kromě nezralosti může lišit v závislosti na klinickém stavu a dalších charakteristikách dítěte (IUGR, těžká BPD, dítě diabetické matky) během celého postnatálního období.

V devadesátých letech se dostaly na trh první komerčně připravené fortifikátory, nyní je fortifikace MM akceptována jako standardní strategie výživy VLBW a ELBW. Fortifikátory MM byly opakovaně testované, zda jsou bezpečné (riziko NEC) a zda nedonošené děti fortifikované MM dobře tolerují. V současnosti se klade důraz na dostatečný obsah základních nutrientů k zajištění adekvátního lineárního růstu a růstu obvodu hlavy (bez navyšování abdominální tukové tkáně), který je podstatný pro vývoj CNS a který přímo souvisí s lepšími neurokognitivními výsledky (Ramel, 2016). Pro metabolismus bílkovin je nezbytný dostatečný

příjem energie (proteinoenergetický index), energii ve fortifikátoru zastupují především sacharidy (glukózové polymery), v některých fortifikátorech jsou již zastoupeny i tuky (např. olej ze světlice barvířské nebo MCT tuky). Nedostatečný příjem ostatních živin vede k specifickým deficitům jako je např. osteopenie z nezralosti (opožděná mineralizace kostní matrix způsobená nedostatečným příjmem vápníku a fosforu). Je důležité, aby děti z kategorie VLBW a ELBW dostávaly dostatečné množství železa, zinku, mědi, selenu a jodu. Méně jasná je suplementace manganu, chromu a molybdenu (Domellöf, 2014). Nicméně pro velkou většinu ostatních mikroživin je deficit, zejména pokud je dočasný, méně závažný (Radmacher, 2017). Existuje řada komerčních fortifikátorů MM (tekuté, práškové), které se liší podle původu použitého mléka (hovězího, lidského nebo oslího) a podle složení jednotlivých živin.

Cílem fortifikace MM je kompenzovat deficity MM. Recentní studie sledující krátkodobý a dlouhodobý benefit fortifikace MM ale upozorňují na nedostatečný obsah některých nutrientů (především bílkoviny) při standardní suplementaci MM, při které je dávkování fortifikátoru určeno výrobcem (Rochow, 2015; Pillai 2020). Výše zmíněná fakta mohou být vysvětlením, proč i při uplatňování moderní strategie enterální výživy riziko postnatální růstové restrikce pro skupinu ELBW a VLBW stále přetrvává (Ehrenkrantz, 2006; Embleton 2001; Sentere, 2012; Griffin, 2016). Proto se v posledních letech začal prosazovat nový koncept “individuálně cílené” výživy nedonošených, který vychází ze současných poznatků o variabilitě a složení MM. Složení fortifikátorů MM ve standardní dávce na 100 ml mléka, které jsou registrované v České republice, je uvedeno v tabulce č. 5.

Tabulka č. 5 Složení MM a složení MM s fortifikátory dostupnými v ČR (standardní dávkování doporučené výrobcem)

obsah/100ml	MM	MM+ PreBEBA FM85	MM+ Nutrilon HMF
Energie (kcal)	67	85	83
Proteiny (g)	1,5	2,9	2,7
Cukry (g)	10	12,6	12,8
Tuky (g)	5,2-6,3	5,2-6,3	5,2-6,3
Na (mg)	15	41	51
K (mg)	50	116	74
Ca (mg)	37	112	99
P (mg)	21	66	59
Mg (mg)	4,5	8,5	9,5
Fe (mg)	0,08	1,78	0,08
Vitamin B1 (µg)	15	30	147
Vitamin B2 (µg)	45	65	199
Vitamin B6 (µg)	9	139	121
Vitamin B12 (µg)	0,03	0,23	0,23
Kys. list. (µg)	4,4	44	34
Vitamin A (IU)	441	978	792
Vitamin C (mg)	10	27,5	22
Vitamin D (IU)	10	150	210
Vitamin E (mg)	0,6	4,5	3,2
Vitamin K (µg)	0,5	8,5	6,9

Zkratky: MM = mateřské mléko

Legenda: Vitamin B1 (thiamin), Vitamin B2 (riboflavin), Vitamin B6 (pyridoxin), Vitamin B12 (kobalamin), Vitamin C (askorbová kyselina), Vitamin A (retinoidy), Vitamin D (kalciferol), Vitamin E (tokoferol), Vitamin K (fyllochinon)

2. 6. Druhy fortifikátorů mateřského mléka

Fortifikace (v odborné literatuře se používá i termín suplementace) MM může být monokomponentní, kdy dodáváme do MM pouze jednu složku, nebo multikomponentní, kdy přidáváme do MM fortifikátor s různým množstvím makro a mikronutrientů.

2.6.1. Monokomponentní fortifikace

Jedná se o doplňky MM komerčně vyráběné a obsahující pouze jednu složku – bílkoviny, lipidy nebo sacharidy. Sacharidová fortifikace se provádí přidáváním např. dextrinu maltózy (v ČR Fantomalt, firma Nutricia). Suplementace lipidů se provádí přidáváním triglyceridů se středním řetězcem (v ČR MCT oil, firma Nutricia). V USA byl uveden do praxe krém na bázi mléčného tuku pro zvýšení energetické hodnoty. Ve 2 studiích byl tento doplněk použit, pokud byla v MM naměřena kalorická hodnota nižší než 67 kcal/ dl mléka (Hair, 2014; Rana, 2020). V současnosti je ve většině evropských zemí včetně ČR k dispozici i proteinový doplněk, který je parciálním hydrolyzátem kaseinu a je speciálně navržen pro předčasně narozené děti (Protein Supplement, firma Nutricia). Tyto jednotlivé složky jsou praktické pro tzv. individualizovanou fortifikaci, ale dosud neexistuje žádný konsensus, jak standardně používat a dávkovat tyto monokomponentní produkty, studie využívající tyto doplňky jsou zatím ojedinělé (Arslanoglu, 2019, Pillai 2020).

2.6.2. Multikomponentní fortifikace

Multikomponentní fortifikátory obsahují různá množství bílkovin, sacharidů, vápníku, fosfátů, minerálů, stopových prvků (zinek, mangan, hořčík, měď), vitamínů a elektrolytů. Kvalita fortifikátorů a způsoby dávkování se postupem času měnily. Problém rizika nedostatečného suboptimálního příjmu živin i při využití fortifikaci spočívá ve variabilitě složení MM a v nedostatečném odhadu klinického stavu a zralosti dítěte. Z tohoto důvodu se hledal i jiný přístup k fortifikaci, aby se mohly naplnit každému jednotlivému dítěti jeho specifické potřeby, které se mohou lišit od průměru skupiny (Ziegler, 2014).

2.7. Způsoby dávkování fortifikátoru mateřského mléka

Ve snaze objasnit terminologii týkající se postupů fortifikace/suplementace MM definovala pracovní skupina Světové asociace perinatálního lékařství (WAPM) v roce 2010 metody dávkování fortifikátoru MM takto (WAPM, 2010):

2.7.1. Standardní fortifikace MM

Standardní fortifikace MM je nejpoužívanější metoda. Provádí se přidáním fixního množství fortifikátoru (většinou podle doporučení výrobce) do 50 nebo do 100 ml MM. Je to praktický přístup, nicméně nezohledňuje variabilitu složení MM a nezabraňuje nízkému příjmu bílkoviny především u dětí z kategorie VLBW a ELBW. Tento problém popsala řada prací, Rochow a kol. zjistili, že při standardní fortifikaci 100 % vzorků MM vyžadovalo další navýšení bílkovinou a sacharidů a 45 % vzorků potřebovalo další suplementaci tukem k dosažení doporučených cílových hladin makronutrientů (Rochow, 2013). Podobný nález výrazně nižšího příjmu všech makronutrientů po standardní fortifikaci popsala portugalská studie (Macedo, 2018). Adekvátní hladina kalorií a bílkovin byly nalezena pouze v 18 % fortifikovaných vzorků MM v 3. – 4. postnatálním týdnu v kanadské práci (Pillai, 2020). Ze současných poznatků je

jasné, že přístup standardní fortifikace MM není optimální, zvyšuje riziko EUGR a časné podvýživy u předčasně narozených dětí.

2.7.2. Individualizované fortifikace MM

Individualizace výživy je považována v současné době za nezbytnou, řeší problém variability složení MM a konkrétních potřeb dítěte podle klinického stavu. Řada vědeckých společností a odborných panelů tuto metodu doporučuje (Moro, 2015; Arslanoglu 2010). Existují dvě metody individualizované fortifikace:

2.7.2.a. Nastavitelná/adjustovaná fortifikace

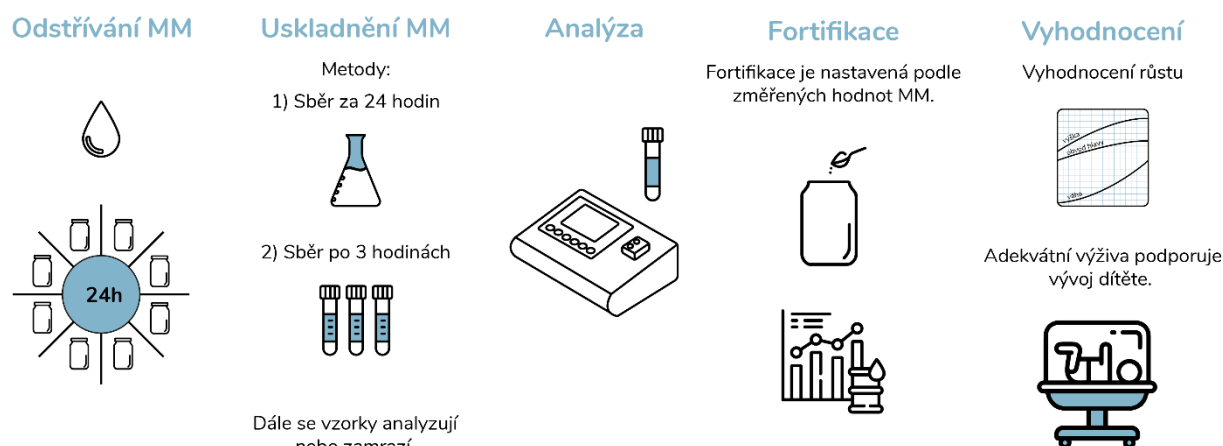
Příjem bílkoviny je monitorován pravidelnými odběry BUN (blood urea nitrogen). Ve studiích s nastavitelnou fortifikací byly odběry prováděny 2x-3x týdně, mezní hladiny v séru byly nastaveny na 10–16 mg/dl. Pokud byl BUN <10 mg/dl, (pozn. hladina BUN 10–16 mg/dl odpovídá koncentracím urey v krvi 3,57–5,71 mmol/l), přidala se bílkovina (proteinový suplement) ke standardní dávce fortifikátoru podle metodiky studie (Arslanoglu, 2012; Rochow, 2015). Tento způsob suplementace prokázal účinnost pro udržení optimálního růstu a příjmu bílkovin (Arslanoglu, 2012; Rochow, 2015). Nastavitelná fortifikace je pro praxi dobře proveditelná, nicméně vyžaduje časté odběry krve, které jsou nezbytné pro monitoraci příjmu bílkoviny. Dalším problémem zůstává interpretace hladiny urey, může být ovlivněna nezralostí renálních funkcí nedonošeného dítěte či celkovou hydratací.

2.7.2.b. Cílená fortifikace

V minulosti se MM analyzovalo standardními biochemickými metodami, které byly časově i finančně náročné a v klinické praxi se neuplatnily (Lucas, 2009). Mezi standardní biochemické metody patří Gerberova metoda, Röse-Gottlieba a McDonald metoda pro

stanovení tuku, Kjeldahlova metoda pro stanovení bílkovin. Pro analýzu laktózy se využívá vysokotlaká kapalinová chromatografie, Lanova a Eynonova metoda. Původní biochemické studie, které sledovaly makronutienty MM byly svými výsledky často neporovnatelné, měly nejednotnou metodiku analýzy a vycházely z menších souborů. V posledních 10 letech se začaly prosazovat bedside analyzátory, které pracují na podkladě infračervené spektroskopie a zpřístupnily biochemickou analýzu MM pro klinické využití (Wojcik, 2009; Cooper, 2013; Bauer, 2011; Zachariassen, 2013), tzn. objevuje se možnost analyzovat MM v pravidelných intervalech přímo v perinatologických centrech a aktuálně reagovat na naměřené hodnoty nutriční intervencí. Na základě výsledků je mléko doplněno o bílkovinu, tuky, sacharidy (obrázek č. 2). Analýzu je možné provádět metodou bed-side. Analýza je finančně i provozně náročnější, ale je rychlá, spolehlivá a neinvazivní (Polberger 1999; Rochow 2015; de Halleux, 2013; Morlacchi, 2016). Tento nový koncept výživy respektuje variabilitu MM a upřesňuje složení MM, v současné době byl vyzkoušen v několika studiích (Fusch, 2015; Rochow, 2015; Pillai 2020).

Obrázek č.2 Princip cílené fortifikace



2.8. Možnosti cílené fortifikace s využitím analýzy MM infračervenou spektroskopií

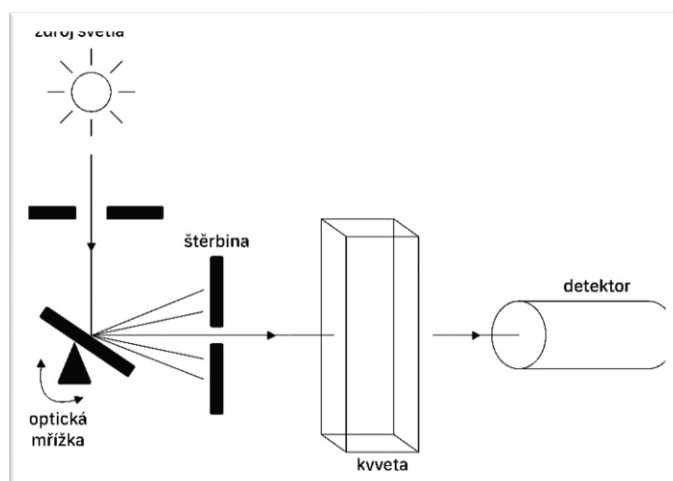
Infračervená (IR) spektroskopie je analytická metoda, která našla své využití i v mlékárenském průmyslu k měření obsahu makronutrientů v kravském mléce (Biggs, 1972). MM se zkoušelo analyzovat v prostředí mléčné banky, studie byly omezené. Některé práce porovnávaly více typů IR technologií (Billard, 2016; Buffin, 2017; Fusch 2015). Parat et al. analyzoval vzorky od 35 matek IR spektroskopií střední oblasti vlnových délek a standardními laboratorními metodami používajícími Kjeldahlovu metodu pro bílkoviny, Mojonnier metodu pro tuky a vysokotlakou kapalinovou chromatografii pro stanovení laktózy. IR spektroskopická analýza makronutrientů v mléce dobře korelovala se standardními laboratorními testy s korelačními koeficienty 0,839 pro bílkoviny, 0,997 pro tuk a 0,776 pro laktózu (Parat, 2017). Další autoři popsali poměrně dobrou přesnost a linearitu IR spektroskopie a podpořili možnost využít této analýzy v klinické praxi (Fusch 2015; Buffin, 2017; Silvestre, 2014).

Některé mléčné banky v kooperaci s Human Milk Banking Association of North America (HMBANA) již přizpůsobily IR analyzátory pro dárcovské MM. Mléčné banky HMBANA nicméně fungují jako výrobci potravin, mají odlišnou legislativu a tím se liší od klinických subjektů, které provozují zdravotnické prostředky. Proto bylo důležité, že v roce 2019 Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA (FDA) schválil první IR spektrofotometr jako zdravotnický prostředek pro testování MM (FDA 2018).

2.8.1. Princip infračervené spektroskopie

Infračervená (IR) spektroskopie je analytická technika určená především pro identifikaci, určení charakteru struktury organických sloučenin a pro stanovení anorganických látek. Tato technika měří absorpci infračerveného záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem (viz. obrázek č.3).

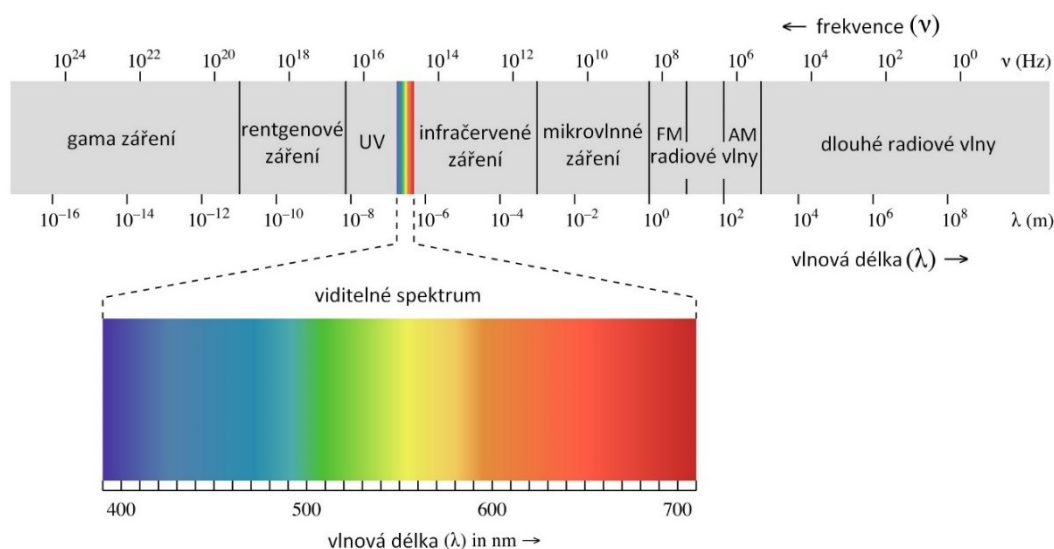
Obrázek č. 3 Princip infračervené spektroskopie



(podle zdroje wikipedia.cz, autor Anna Burianová)

Infračervené záření je elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 0,78 - 1000 μm , což odpovídá rozsahu vlnočtů $12800\text{--}10\text{ cm}^{-1}$. Celá oblast bývá rozdělena na blízkou ($13000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$), střední ($4000\text{--}200\text{ cm}^{-1}$) a vzdálenou infračervenou oblast ($200\text{--}10\text{ cm}^{-1}$), nejpoužívanější je střední oblast (viz obrázek č.4).

Obrázek č. 4 Vlnové délky a frekvence infračerveného záření



<https://kosmonautix.cz/2019/02/>, (uvedeno se souhlasem autora D. Majera)

Principem metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem, při níž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Výstupem je infračervené spektrum. Vyjadřuje se většinou v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření. Transmitance (propustnost) je definována jako poměr intenzity záření, které prošlo vzorkem, k intenzitě záření vycházejícího ze zdroje. Absorbance je definována jako dekadický logaritmus propustnosti. Absorpční pásy mající vrcholy v intervalu $4000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$ jsou vhodné pro identifikaci funkčních skupin (např. --OH , C=O , N-H , CH_3 aj.). Pomocí „Search programů“ a digitalizovaných knihoven infračervených spekter je možno identifikovat neznámou analyzovanou látku.

2.8.2. Analyzátor MIRIS HMA

V naší studii jsme použili analyzátor MIRIS HMA (Uppsala, Sweden) využívající analytické metody IR transmisní spektroskopie ve střední oblasti vlnové délky, viz. obrázek č. 4. Analyzátor je produktem švédské společnosti Miris, která byla založena v roce 2001 se zaměřením na produkty pro analýzu mléka. Analyzátor MIRIS HMA je praktickou alternativou ke stávajícím metodám díky nižším nákladům, vysoké analytické přesnosti a bed-side využití. IR spektroskopická technika se střední oblastí vlnových délek je v současné době schválena Mezinárodní mlékárenskou federací (International Dairy Federation, IDF) a Mezinárodní asociací analytických chemiků (International Association of Official Analytical Chemists, AOAC) pro využití v mlékárenském průmyslu. Analyzátor MIRIS HMA je registrován jako zdravotnický prostředek v Evropě, USA, Japonsku a Indonésii.

MIRIS HMA měří obsah tuků, bílkovin, sacharidů a sušiny - všechny složky v jednom kroku. Přístroj je kalibrován výrobcem pro analýzu MM. Analýza se provádí aplikací 3 ml vzorku do přístroje, výsledek je prezentován se dvěma desetinnými místy na displeji přístroje a lze jej snadno přenést do počítače. Analyzátor MIRIS HMA je možné ovládat buď jako samostatnou jednotku nebo pomocí klávesnice a/nebo myši. Další technické parametry uvedeny v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6 Technické parametry MIRIS HMA

Operační system	Windows CE 5.0 V
Rozměry	9 x 26 x 31 cm
Hmotnost	3 kg
Napájení	15V, 4A DC
USB B	PC připojení pro přenos dat a aktualizaci programu přes ActiveSync nebo Windows Mobile Device Center
USB A	pro paměťovou flash disk a jiné zařízení – klávesnice, myš, skener
Export dat	Ethernet, flash disk
Zálohování naměřených dat	Interní trvalá flash paměť
Interní úložná kapacita	4000 měření
Přesnost	(SD) <0,1 %
Opakovatelnost	(SD) <0,05 %

Obrázek č. 4 analyzátor MIRIS HMA



Foto: zdroj <https://www.mirissolutions.com/our-products>

Pro přípravu vzorků mléka pro analýzu pomocí Miris Human Milk Analyzer se používá Miris ultrazvukový procesor (homogenizátor MM), viz obrázek č. 5. Homogenizace je důležitým krokem při přípravě vzorků mléka pro celkové stanovení tuku, protože snižuje variabilitu velikosti tukových globulí, snižuje efekt rozptylu světla větších kuliček a tím se zvyšuje přesnost měření. Procesor používá vysokofrekvenční ultrazvukové vlny k homogenizaci vzorku MM pomocí kavitace. Kavítace je tvorba a kolaps vzduchových bublin způsobených kolísáním tlaku. Kolaps bublin uvolňuje rázové vlny, které způsobují narušení tukových kuliček, které se tím zmenšují. Bílkoviny jsou adsorbovány na kapičky tuku, což zlepšuje stabilitu tukových kuliček. Energetický výkon ultrazvukového procesoru Miris je přibližně 20 J /s/ml MM. Pro homogenizaci mléka je důležité standardní nahřátí vzorku, které zvyšuje účinnost procesoru. Pro zajištění přesnosti měření je nutné a velice důležité dodržovat správnou manipulaci se vzorky MM (dodržení správných postupů při rozmrazování, přelévání,

ohřívání) včetně dostatečné homogenizace MM a pravidelné kalibrace IR analyzátoru (Buřín; 2017; Kotrri, 2016; Smilowitz, 2014; Fusch, 2017).

Obrázek č. 5 Miris ultrazvukový procesor-homogenizátor



Foto: zdroj <https://www.mirissolutions.com/our-products>

Pro kontrolu přesnosti kalibrace analyzátoru Miris se periodicky analyzují kalibrační kontrolní kity s definovaným obsahem makronutrientů (viz obrázek č. 6). Skládají se ze dvou standardizovaných roztoků (Miris Calibration Control 1 a Miris Calibration Control 2).

Obrázek č. 6

Kalibrační kontrolní kity-Miris Calibration Control 1 a Miris Calibration Control 2



Foto: zdroj <https://www.mirissolutions.com/our-products>

K vynulování nastavení analyzátoru a ke kontrole, že čištění bylo provedeno úspěšně, se používají nahřáté Miris kontrolní roztoky (Miris Check), viz obrázek č. 7a.

Obrázek č.7a, b Kontrolní roztoky-Miris Check a čistící roztoky



Foto: zdroj <https://www.mirissolutions.com/our-products>

Pro údržbu analyzátoru se používá destilovaná voda k proplachům a pro čištění kyvety Miris HMA a povrchu přístroje se používají nahřáté čistící roztoky, viz obrázek č. 7b.

2.8.3. Studie sledující přesnost IR analyzátorů včetně MIRIS HMA

Přesnost a spolehlivost IR analyzátorů sledovala řada studií. Perrin a kol. popsali vysokou přesnost měření tuku a bílkovin v MM pomocí komerčně dostupných IR technologií včetně Miris HMA ve 3 různých mléčných bankách. V jeho práci byly zahrnuty IR spektrofotometry vyvinuté speciálně pro MM (Miris HMA) a pro mlékárenský průmysl (MilkoScan, LactoScope, SpectraStar) přizpůsobené mléčnými bankami pro měření dárcovského mléka (Perrin, 2019). Další autoři publikovali dobrou přesnost při měření celkového tuku a bílkovin pomocí IR spektroskopie v blízké oblasti spektra (Sauer, 2011; Fusch 2015; Kotrri, 2016), střední oblasti IR spektra (Menjo, 2009; Fusch 2015; Billard, 2016; Zhu, 2017; Buřin; 2017) a v celospektrální IR oblasti, všechna zařízení byla kalibrována na MM (Smilowitz, 2014; Michaelsen, 1988).

Silvestre a Fusch testovali různé typy IR analyzátorů MM včetně MIRIS HMA. Oba dospěli k závěru, že měření makronutrientů v MM pomocí IR analyzátorů je bezpečné a akceptovatelné pro klinické využití (Fusch 2015; Silvestre, 2014). Obě práce ale zaznamenaly rozdíly v přesnosti měření sacharidů napříč zařízeními. Autoři rozdíl v měření vysvětlili tím, že IR technologie měří celkové sacharidy a nerozlišují mezi laktózou a oligosacharidy MM. Oligosacharidy mateřského mléka jsou nenutritivní sacharidy selektivně podporující růst prospěšných střevních bifidobakterií, působí jako rozpustné "návnadové" receptory pro patogeny (Ballard 2013; Zivkovic, 2011). Kolostrum má větší obsah oligosacharidů, obsahuje 1,5 g oligosacharidů/100 ml MM, dále se koncentrace snižuje na 0,5 g/100ml. Kalibrační rovnice IR spekter vyvinuté mléčnými bankami odvozují hodnoty laktózy z celkových měření sacharidů na základě známých hodnot laktózy z kalibračních vzorků (Menjo 2009, Smilowitz 2014, Fusch 2015, Michaelsen, 1988; Silvestre, 2014). Rozdíly v obsahu sacharidů poskytovaly při dlouhodobém měření (měsíc a déle) konzistentní výsledky s velmi malým rozmezím 0,06% až 0,22%, tyto rozdíly nebyly hodnoceny jako klinicky významné. Pokud byly zaznamenány změny při dlouhodobém měření, spíše byly způsobeny nedostatečnou kalibrací a nepravidelným čištěním IR přístrojů (Fusch 2015; Silvestre, 2014).

IR analyzátory měří hodnoty bílkovin pomocí extrapolace z obsahu dusíku v MM. Miris HMA používá konverzní faktor 6,38 k převodu obsahu N na obsah bílkovin. Průměrné složení neproteinového dusíku v referenčních vzorcích se udává 28 % (rozmezí 20–34 %), proto jsou stanoveny konverzní faktory pro získání skutečných hodnot bílkovin, které se mohou lišit podle typu analyzátoru.

3. Úvod k vlastní vědecké práci

V rámci postgraduálního studia byly řešeny 2 na sebe navazující projekty.

Cílem 1. projektu bylo určit metodou IR spektroskopie obsah makronutrientů v MM v prvních 9 týdnech po předčasném porodu a po analýze porovnat rozdíly ve složení MM vzhledem k míře nedonošenosti dítěte.

Cílem 2. projektu bylo určit, zda některé mateřské charakteristiky mají asociaci s obsahem základních makronutrientů v MM po předčasném porodu.

4. Metodika

4.1. Soubor pacientů a sběr vzorků

Oba projekty byly vedeny jako prospektivní observační kohortové studie. U projektu č. 1, který se zaměřil na vliv předčasného porodu na složení MM, byly vzorky odebírány ve Fakultní Thomayerově nemocnici v Praze, ve Fakultní nemocnici Hradec Králové a v participujících centrech (Fakultní nemocnice Olomouc, Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, Krajská nemocnice Ústí nad Labem). Všechny vzorky byly odebírány podle metodiky studie. Analýzy a sběr nativních (nemražených) vzorků probíhala pouze ve FN Hradec Králové. Analýza a sběr mražených vzorků probíhala ve Fakultní Thomayerově nemocnici v Praze. U projektu č. 2, který sledoval, zda jsou některé mateřské charakteristiky asociovány s obsahem základních makronutrientů MM, se analyzovaly z provozních důvodů pouze mražené vzorky. Vzorky MM matek, které porodily předčasně mezi 24+0 a 35+6 týdnem těhotenství (g.t.), byly získány na novorozeneckých odděleních odstříkáním MM odsávačkou nebo

manuálně pod dohledem neonatologa nebo neonatologické sestry. Vzorky byly odebrány během konstantní doby (8,00-15,00) na novorozeneckém oddělení po jednorázovém kompletním odsátí MM před plánovaným časem kojení/přikládání. Po šetrném promíchání celého objemu MM odebrala odpovědná neonatologická sestra vzorek 3 ml, který byl zamražen nebo ihned zpracován pro analýzu. Každá matka poskytla jeden nebo dva vzorky během prvních 7 dnů (kolostrum). V dalších 8 týdnech po porodu byly odebrány vždy 2 vzorky (pravidlo maximálně 1 vzorek v jednom dni). Pokud měla matka dostatečnou laktaci, bylo odebráno 18 vzorků mléka za 9 týdnů. Do skupiny A byly zařazeny vzorky mléka matek, které porodily mezi 24+0 až 30+6 g.t., do skupiny B vzorky od 31+0 do 35+6 g.t. Všechny vzorky byly označeny unikátním kódem a buď ihned analyzovány nebo bezprostředně po odstříkání zamrazeny (-18 °C). Mražené vzorky byly před analýzou pomalu rozmrazeny v chladničce, následně byl vzorek zahřát na 40 °C v termostatické lázni a poté homogenizován v sonikátoru (VC 130 Chemical instrument AB, Švédsko). Všechny vzorky byly označeny unikátním kódem. Systematicky jsme zaznamenávali demografické a antropometrické charakteristiky matek, včetně gestačního stáří v den porodu, způsobu porodu, parity, hmotnosti matky před těhotenstvím, výšky, BMI před těhotenstvím, kouření a in vitro fertilizaci (IVF). Vzhledem ke klesajícímu počtu vzorků od jednotlivých matek byly v projektu č.2 statisticky zpracovány výsledky prvních 6 týdnů. BMI bylo kategorizováno jako podvýživa ($\text{BMI} < 18,5$), normální hmotnost ($\text{BMI} 18,5$ až 25), nadváha ($\text{BMI} 25$ až $29,9$) a obezita ($\text{BMI} \geq 30$) podle definice Světové zdravotnické organizace (World Health Organization, 2018). Vzhledem k malému počtu matek ve skupině s $\text{BMI} < 18,5$ (8 matek, 4,2 % z celkového souboru) byla tato skupina pro potřeby analýzy dat kombinována se skupinou s normální váhou. V níže uvedené statistické analýze bylo u některých modelů porovnávání dvou skupin definovaných jako $\text{BMI} < 30$ vs. $\text{BMI} \geq 30$ smysluplnější. Pro označení starší a mladší matky jsme použili hranici 30 let. Kouření bylo definováno jako užití pěti a více cigaret/den během těhotenství a kojení.

4.2. Laboratorní analýza vzorků

Analýza byla provedena na přístroji MIRIS Human Milk Analyser (Uppsala, Sweden), který využívá metodu transmisní IR spektroskopie a stanovuje obsah základních makrokomponent MM. Před analýzou byl vzorek zahřátý na 40 °C ve vodní lázni a podle typu vzorku následně homogenizován ultrazvukovým procesorem (VCX 130 Chemical Instruments AB, Sollentuna, Sweden). Podle typu zpracovávaného vzorku MM byl nastaven mód analýzy přístroje dle doporučení výrobce.

4.3. Statistická analýza

U projektu č. 1 byly demografické charakteristiky souboru porovnány použitím neparametrického Mann-Whitney U testu pro spojité proměnné a data byla prezentována jako hodnoty mediánu s rozptylem. Kategorické proměnné byly zhodnoceny pomocí Fisherova přesného testu a jsou prezentovány jako čísla, resp. procenta. Wilcoxonův test a Mann Whitney U test byly použity pro porovnání obsahu makronutrientů mezi skupinami a jsou prezentovány jako hodnoty mediánu s rozptylem. Jako statisticky významné rozdíly byly považovány hodnoty $p < 0,05$. Všechny výsledky byly získány použitím párových testů a analýzy byly provedeny použitím software NCSS 9 (Hintze, J. (2013). NCSS 9. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA. www.ncss.com <<http://www.ncss.com>>) nebo Statistica 13 (Dell Inc. (2015) Dell Statistica (data analysis software system), version 13. software.dell.com).

U projektu č. 2 jsou data prezentována pomocí průměru se směrodatnou odchylkou (SD) a/nebo pomocí mediánu s interkvartilovým rozpětím (IQR) podle typu dat. Pro porovnání průměrného věku matek mezi primiparami a multiparami byl použit dvouvýběrový t-test. Naměřené hodnoty byly mezi skupinami porovnány pomocí neparametrického Mann-Whitney U testu v případě spojitých charakteristik; data jsou prezentována jako hodnoty mediánu s rozptylem (min-max). V případě kategorických proměnných byly hodnoceny pomocí Fisherova

přesného testu a jsou prezentovány jako čísla (resp. procenta). Věk rodiček ve skupině primipar a multipar byl porovnán pomocí dvouvýběrového t-testu. Jako statisticky významné rozdíly byly považovány hodnoty $p < 0,05$. K posouzení vlivu mateřských charakteristik (věk matky, způsob porodu, oplodnění in vitro, parita, kouření, výška matky, hmotnost před těhotenstvím a BMI před těhotenstvím) na obsah nutrientů v kolostru (vzorky odebrané během prvních 7 dnů po porodu) byla použita vícenásobná lineární regrese. K posouzení vlivu mateřských charakteristik na obsah nutrientů ve zralém mléce jsme analyzovali výsledky pomocí modelů vícenásobné lineární regrese s proměnnou "čas" v podobě lineárního a kvadratického členu. Mateřské faktory byly přidávány postupně s interakcí i bez interakce s časem. Parita byla zjednodušena na primipara versus multipara. Možné korelace mezi vzorky odebranými od jedné matky jsem zohlednili použitím odhadů založených na metodě zobecněných odhadovacích rovnic (Generalized Estimating Equations, GEE). Tato metoda poskytuje robustní odhady jak pro regresní koeficienty, tak pro příslušné standardní chyby. Pro každý model byla vypočtena upravená hodnota R^2 , aby bylo možné získat lepší přehled, jak velkou část celkové variability navrhované modely vysvětlily. Měření bílkovin a energie muselo být transformováno pomocí přirozeného logaritmu, aby byla zajištěna normalita residuů. Měření sacharidů sice z hlediska korektnosti vyžadovalo Box-Coxovu transformaci, regresní výsledky bylo však obtížné interpretovat. Protože odhadované účinky na mateřské charakteristiky byly podobné jak u transformovaných, tak u netransformovaných regresních modelů, rozhodli jsme se ponechat měření sacharidů netransformovaná. U modelu obsahu tuku a energie byla přítomna interakce pro čas a BMI. Úroveň statistické významnosti byla stanovena na 0,05. Všechny analýzy byly provedeny pomocí statistického jazyka a prostředí R, verze 3.5.0 (Team RC, 2018). Knihovna gee byla použita pro analýzu GEE, knihovna nlme a MuMIn pro R^2 kalkulace.

4.4. Informovaný souhlas a schválení etické komise

Informovaný souhlas byl matce předán po porodu. Studii schválily etické komise Fakultní Thomayerovy nemocnice a Fakultní nemocnice Hradec Králové - Ref. čísla 2 01 312 S21P a 646/14 (A 14-04-02).

5. VÝSLEDKY

5.1. Projekt č. 1

V období od května 2014 do května 2016 bylo celkem analyzováno 1917 vzorků odebraných od 225 matek po předčasném porodu. Skupina A (24.-30. g.t.) obsahovala 969 vzorků mléka, skupina B (31.-35. g.t.) obsahovala 948 vzorků. Základní charakteristika souboru je uvedena v tabulce č.7, nevykazovala významné rozdíly kromě frekvence porodu císařským řezem, což je z pohledu doporučených postupů v porodnictví logické a očekávané.

Tabulka č. 7

Demografické údaje matek a novorozenců zařazených do skupiny A (24-30 g.t.) a B (31-35g.t.)

	24-30 g.t. n = 85	31-35 g.t. n = 140	<i>p-hodnota</i>
počet vzorků	969	948	
věk matky (medián, min-max)	31 (20-43)	31 (21-44)	0,93
těhotenství (medián, rozptyl)	2 (1-8)	2 (1-9)	0,75
IVF	6 (7 %)	21 (15 %)	0,09
císařský řez	63 (74 %)	78 (56 %)	0,007
porodní hmotnost (medián, rozptyl)	1105 g (385-1870)	1955 g (1070-2970)	<0,0001
gestační týden (medián, min-max)	28 (24-30)	33 (31-35)	<0,0001

Zkratky: IVF=in vitro fertilizace

Změna kolostra (vzorky 1 a 2) na zralé mléko v období prvních dnů života byla provázena snížením bílkoviny (tabulka č.8, graf č.1).

Tabulka č. 8 Porovnání obsahu makronutrientů mezi skupinou A a skupinou B v prvním týdnu laktace po předčasném porodu

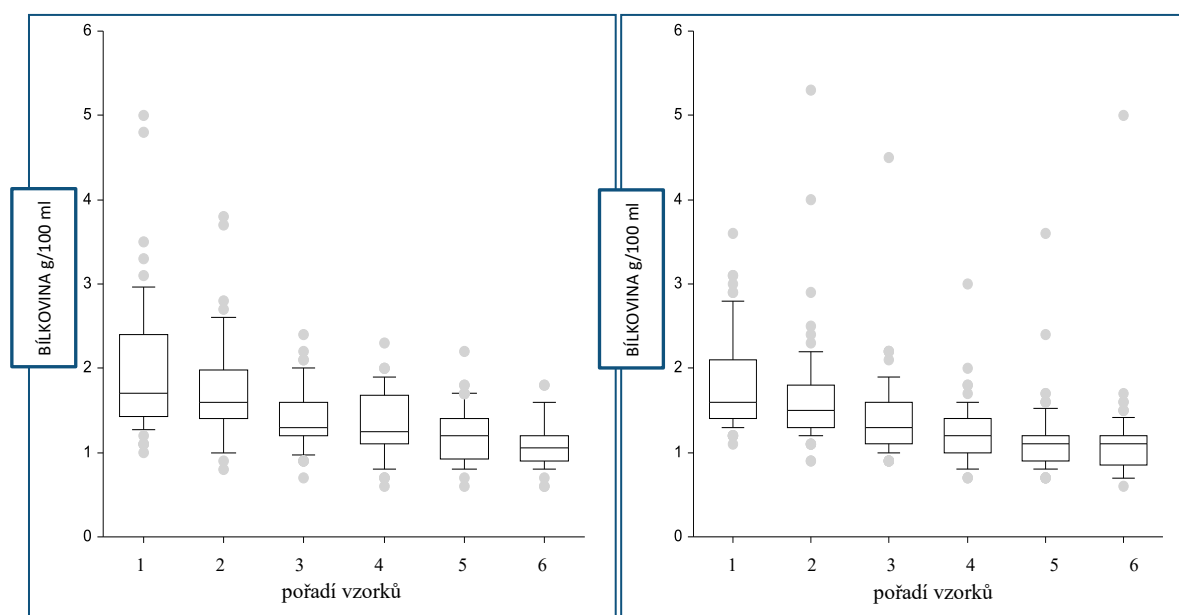
	Vzorek	Den	Medián (rozptyl) 24- 30 g.t. (skupina A)	<i>p</i> - hodnota	Medián (rozptyl) 31- 35 g.t. (skupina B)	<i>p</i> - hodnota
Energie (kcal/100ml)	1	4-6	69 (45-91)	0,0113	67 (42-104)	0,00178
	2	5-7	74 (45-103)		71 (47-112)	
Bílkovina (g/100ml)	1	4-6	1,7 (1-5)	0,00246	1,6 (1,1-3,6)	0,000042
	2	5-7	1,6 (0,8-3,8)		1,5 (0,9-5,3)	
Sacharidy (g/100ml)	1	4-6	6,25 (3,-7,2)	0,000686	6,4 (0,6-7,1)	0,000626
	2	5-7	6,5 (4,2-7,6)		6,6 (0,4-7,2)	
Tuk (g/100ml)	1	4-6	3,6 (0,9-6,1)	0,00525	3,4 (1,6-7)	0,000352
	2	5-7	4,25 (1,1-7)		4 (1,6-7,4)	

p-hodnota vyjadřuje významnost rozdílu v obsahu bílkoviny mezi vzorky 1 a 2. Hodnoty jsou prezentovány jako medián s rozptylem (min-max).

Zkratky: g.t. – gestační týden.

Koncentrace bílkoviny dále klesala u skupiny A z hodnoty 1,72 (1,0-5,0) g/100ml (medián, mezikvartilové rozpětí IQR), u skupiny B z hodnoty 1,65 (1,1-3,6) g/100ml (medián, IQR) na konci 1. týdne na průměrnou koncentraci 1,1 (0,9-1,2) g/100 ml (medián, IQR) u obou skupin na konci 3. týdne (Graf č.1). Nebyl pozorován statisticky signifikantní rozdíl v obsahu bílkoviny mezi skupinou A a skupinou B v průběhu prvních tří týdnů laktace (tabulka č. 9).

Graf č. 1 Obsah bílkoviny v prvních 3 postnatálních týdnech ve skupině 24.-30. g.t. (vlevo) a 31.-35. g.t. (vpravo).



Boxplot s vizualizací numerických dat pomocí kvartilů. Střední část diagramu je shora ohraničena 3. kvantilem a 1. kvantilem, mezi nimi se nachází linie vymezující medián.

Tabulka č. 9 Obsah bílkoviny v prvních 3 postnatálních týdnech ve skupině A (24.-30. g.t.) a B (31.-35. g.t.).

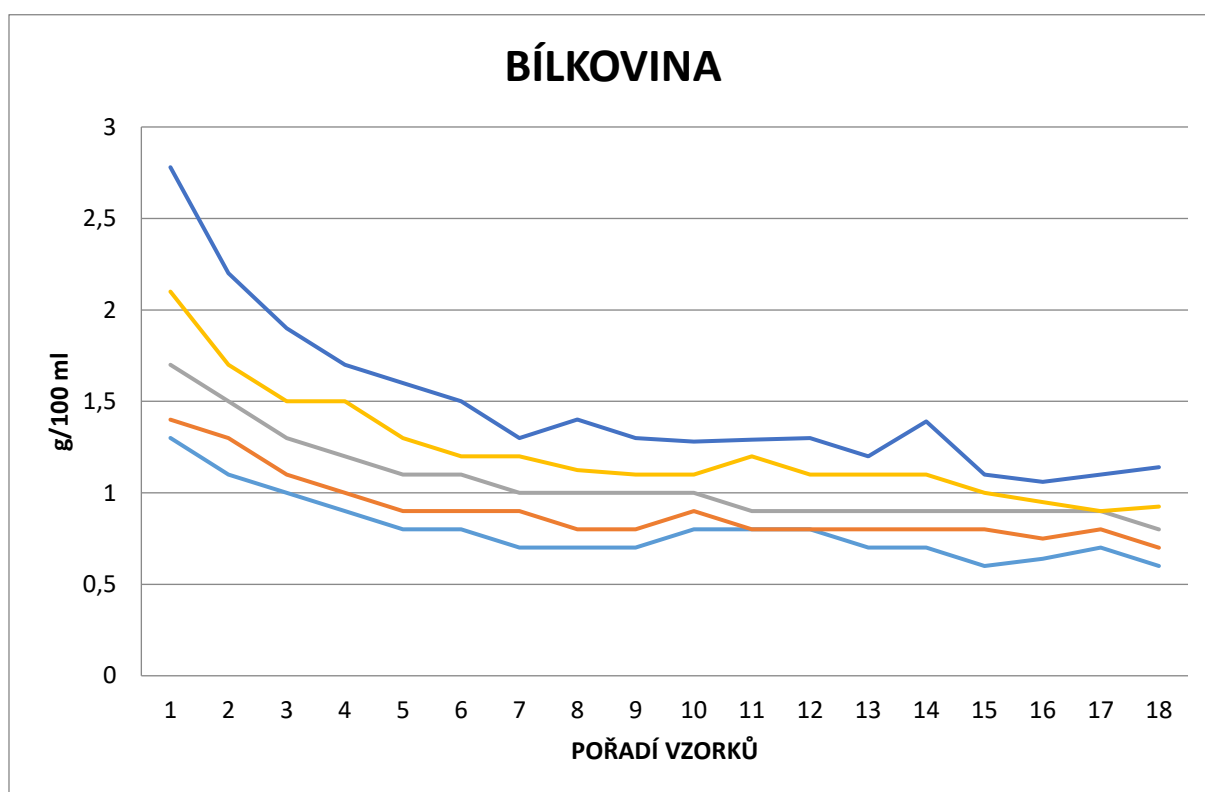
Vzorek	Bílkovina (g/100ml)		
	24-30 g.t. (skupina A)	31-35 g.t. (skupina B)	p-hodnota
1	1,7 (1,0-5,0)	1,6 (1,1-3,6)	0,28
2	1,6 (0,8-3,8)	1,5 (0,9-5,3)	0,35
3	1,3 (1,0-2,0)	1,3 (1,0-5,0)	0,51
4	1,3 (0,6-2,3)	1,2 (0,7-3,0)	0,17
5	1,2 (0,6-2,2)	1,1 (0,7-3,6)	0,03
6	1,1 (0,6-1,8)	1,1 (0,6-5,0)	0,44

Data jsou prezentována jako hodnoty mediánu (s rozptylem min-max). P-hodnota vyjadřuje významnost rozdílu mezi skupinou A a B.

Zkratky: g.t.– gestační týden

Změny v obsahu bílkoviny jsou detailně vyjádřeny v tabulkách č. 9-10 a v grafu č.2. Koncentrace nižší než 1,5 g/100 ml, což byla původně očekávaná referenční hodnota pro bílkovinu MM po předčasném porodu, byla zaznamenána v 1512 vzorcích, tj. 78,9 % (Gomella, 2009).

Graf č. 2 Bílkovina v MM celého souboru matek (skupina A+B) po předčasném porodu po dobu 9 týdnů (18 měření). Hodnoty jsou prezentovány v percentilovém grafu (10., 25., 50., 75., 90. percentil).



Tabulka č. 10 Obsah makronutrientů a energie v mateřském mléce v celém souboru (A+B) po předčasném porodu v průběhu 9 postnatálních týdnů.

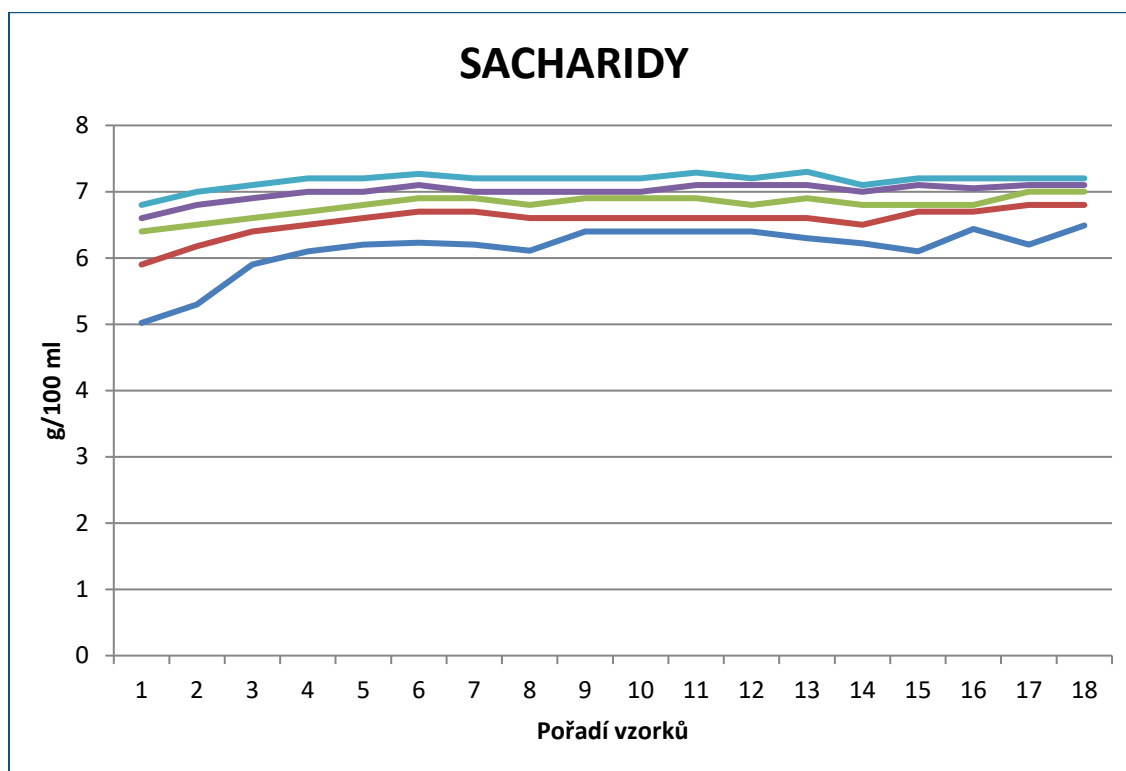
Týden	vzorek	Energie (kcal/100ml)	Bílkovina (g/100ml)	Sacharidy (g/100ml)	Tuk (g/100ml)
		Medián (IQR)	Medián (IQR)	Medián (IQR)	Medián (IQR)
1	1	65 (57-74)	1,7 (1,4-2,1)	6,4 (5,9-6,7)	3,2 (2,5-4,3)
	2	70 (62-82)	1,5 (1,3-1,7)	6,5 (6,1-6,8)	3,8 (3-4,9)
2	1	71 (65-82)	1,3 (1,1-1,5)	6,6 (6,35-6,9)	4 (3,4-5,1)
	2	71 (64-80)	1,2 (1-1,5)	6,7 (6,5-7)	4 (3,3-4,95)
3	1	70 (64-78)	1,1 (0,9-1,3)	6,8 (6,6-7)	4 (3,4-4,8)
	2	68 (62-76)	1,1 (0,9-1,2)	6,9 (6,7-7,1)	3,85 (3,1-4,8)
4	1	68 (63,5-76,5)	1 (0,9-1,2)	6,9 (6,7-7)	3,8 (3,3-4,7)
	2	70 (63-78)	1 (0,8-1,2)	6,8 (6,6-7)	4 (3,3-4,9)
5	1	70 (61,5-76,5)	1 (0,8-1,1)	6,9 (6,6-7)	4 (3,1-4,7)
	2	68 (61-74)	1 (0,9-1,1)	6,9 (6,6-7)	3,7 (3,1-4,5)
6	1	68 (59-75)	0,9 (0,8-1,2)	6,9 (6,6-7,1)	3,65 (2,8-4,5)
	2	66 (62-74)	0,9 (0,8-1,1)	6,8 (6,6-7,1)	3,6 (3,1-4,4)
7	1	66 (61-72)	0,9 (0,8-1,1)	6,9 (6,6-7,1)	3,7 (3,1-4,4)
	2	64 (58-71)	0,9 (0,8-1,1)	6,8 (6,5-7)	3,4 (2,9-4,4)
8	1	64 (57,5-73)	0,9 (0,75-1)	6,8 (6,7-7,1)	3,5 (2,85-4,3)
	2	65 (61-75)	0,9 (0,7-1)	6,8 (6,7-7,1)	3,6 (3,1-4,6)
9	1	66 (58-71,5)	0,9 (0,75-0,9)	7 (6,8-7,1)	3,5 (2,9-4,2)
	2	66,5 (65-73)	0,8 (0,7-1)	7 (6,8-7,1)	3,8 (3,5-4,3)

Hodnoty jsou prezentovány jako hodnoty mediánu s mezikvartilovým rozpětím.

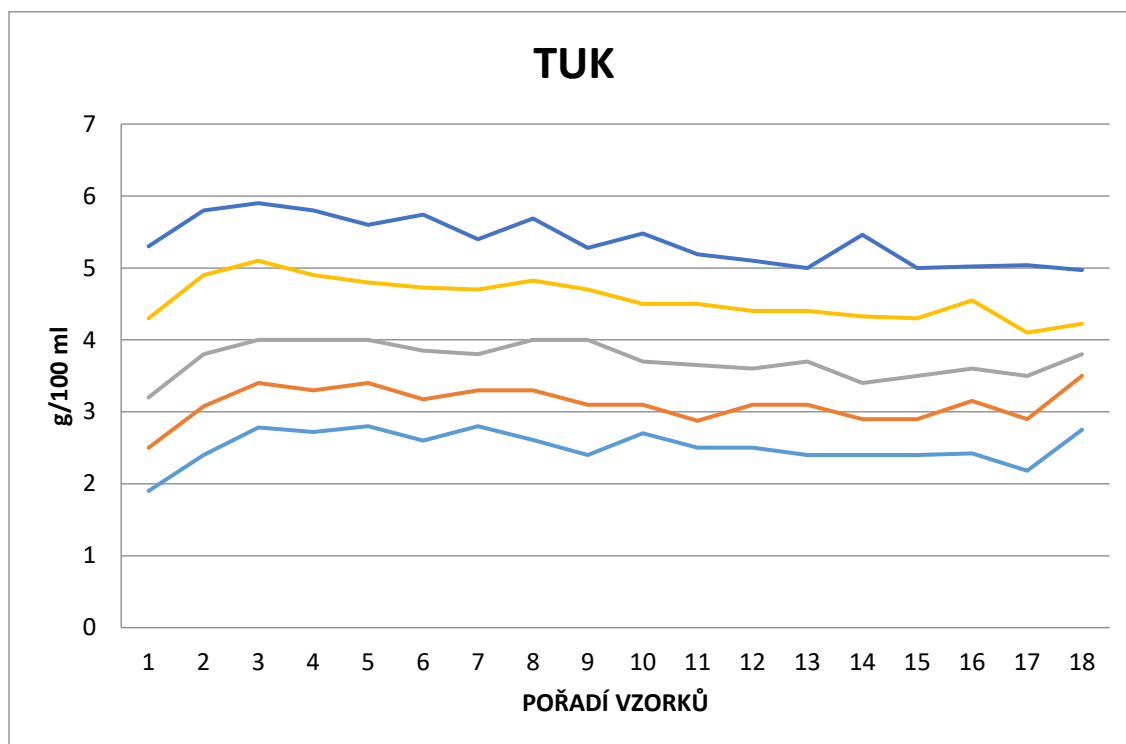
Zkratky: IQR – interquartile range.

Na rozdíl od bílkovin byl průměrný obsah sacharidů a tuků během celé 9 týdenní periody relativně stabilní (graf č. 3, graf č. 4).

Graf č. 3 Sacharidy v MM celého souboru matek (skupina A+B) po předčasném porodu po dobu 9 týdnů (18 měření). Hodnoty jsou prezentovány v percentilovém grafu (10., 25., 50., 75., 90. percentil).

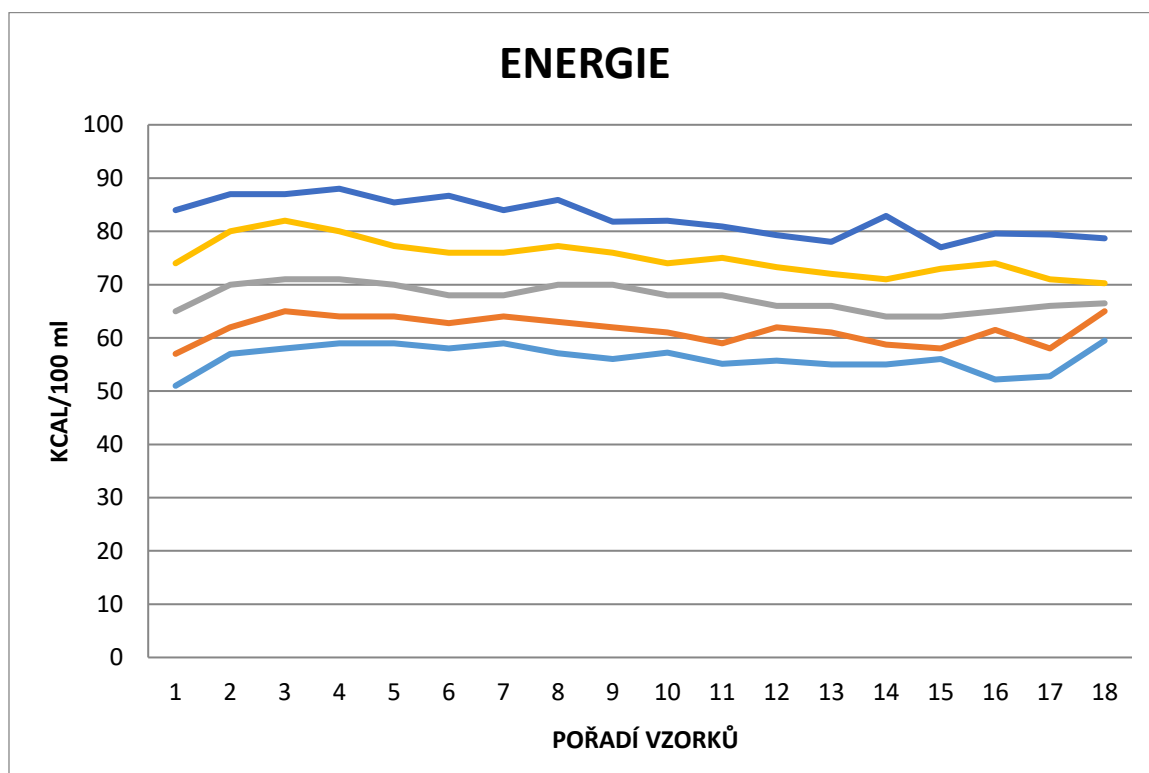


Graf č. 4 Tuk v MM celého souboru matek (skupina A+B) po předčasném porodu po dobu 9 postnatálních týdnů (18 měření). Hodnoty jsou prezentovány v percentilovém grafu (10., 25., 50., 75., 90. percentil).



Interindividuální variabilita byla zaznamenána především u tuků, např. v 6. týdnu 3,65 g/100ml (2,8-4,5) median (IQR), což také vysvětluje variabilitu kalkulované energie mezi jednotlivými vzorky. Téměř polovina všech analyzovaných vzorků (925 vzorků – 48,3 %) měla energetický obsah nižší než 67 kcal/dl, což byla původně očekávaná referenční hodnota pro energii MM po předčasném porodu, viz tabulka č.10, graf č.5 (Gomella, 2009).

Graf č. 5 Energie v MM celého souboru matek (skupina A+B) po předčasném porodu po dobu 9 týdnů (18 měření). Hodnoty jsou prezentovány v percentilovém grafu (10., 25., 50., 75., 90. percentil).



5.2. Projekt č.2

V období od května 2014 do května 2017 bylo do studie postupně zařazeno 207 matek. Patnáct matek bylo vyloučeno z důvodu nedostatečné laktace. Pro konečnou analýzu zůstalo 192 matek. Mateřské charakteristiky jsou uvedeny v tabulkách č. 11, 12.

Tabulka č 11 Charakteristiky matek, spojité proměnné (N = 192)

	Všechny 24+0 až 35+6 g.t.		Skupina A (N = 71) 24+0 až 30+6 g.t.		Skupina B (N = 121) 31+0 až 35+6 g.t.		P
	medián (IQR)	Rozsah	medián (IQR)	Rozsah	medián (IQR)	Rozsah	
Věk matky (roky)	31,0 (7,0)	22 - 44	31,0 (7,0)	22 - 41	31,0 (8,0)	21 - 44	0,464
Výška (cm)	168,0 (8,0)	148 - 184	168,0 (7,0)	153 - 184	168,0 (8,0)	148 - 183	0,577
Hmotnost před těhotenstvím (kg)	63,0 (1,5)	40 - 115	63,0 (16,5)	49 - 111	62,0 (13,0)	40 - 115	0,559
BMI před těhotenstvím (kg/m ²)	22,1 (4,8)	17,9 - 39,3	22,1 (4,2)	18,2 - 39,3	22,1 (4,8)	17,9 - 36,7	0,901
Počet vzorků od jedné matky	8,0 (7,2)	3 - 18	12,0 (7,0)	3 - 18	6,0 (4,0)	4 - 18	<0,0001
Počet vzorků (9 týdnů/ 6 týdnů)	1789 / 1561		862 / 694		927 / 867		

Zkratky: g.t. = gestační věk, IQR = interkvartilový rozsah, BMI = body mass index.

Skupiny A vs. B se porovnávají pomocí testu Wilcoxon.

p-hodnota udává významnost rozdílu mezi skupinou A a B.

Tabulka č. 12 Charakteristiky matek, kategorické proměnné (N = 192)

	Všechny 24+0 až 35+6 g.t.	Skupina A (N = 71) 24+0 až 30+6 g.t.	Skupina B (N =121) 31+0 až 35+6 g.t.	
	n (%)	n (%)	n (%)	<i>P</i>
BMI < 18,5	8 (4,2)	2 (2,8)	6 (5,0)	0,057
18,5 – 24,99	135 (70,3)	53 (74,7)	82 (67,8)	
25 – 29,99	25 (13,0)	4 (5,6)	21 (17,3)	
> 30	24 (12,5)	12 (16,9)	12 (9,9)	
Parita 1.	108 (56,2)	39 (54,9)	69 (57)	0,931
2.	61 (31,8)	23 (32,4)	38 (31,4)	
3. a více	23 (12,0)	9 (12,7)	14 (11,6)	
In vitro fertilizace	13 (6,8)	4 (5,6)	9 (7,5)	0,062
Vaginální porod / SC	68 (35,4) / 124 (64,6)	19 (73,2) / 52 (26,8)	49 (40,5) / 72 (59,5)	0,786
Kouření	13 (6,8)	5 (7,0)	8 (6,6)	0,935

Zkratky: BMI = body mass index, SC = císařský řez

Skupiny A vs. B jsou porovnávány pomocí Fisherova testu

P-hodnota udává významnost rozdílu mezi skupinou A a B.

Celkem bylo odebráno 1558 vzorků MM; počet vzorků se v průběhu dalších postnatálních týdnů snižoval, viz tabulka č. 13. Obsah bílkovin se v prvních třech týdnech po porodu snížil a poté zůstal stabilní až do konce 9. týdne. Koncentrace sacharidů se zvyšovala do konce třetího týdne, dále již byla stabilní. Obsah tuku a energie v MM se lišily v rámci individuální variability po celou dobu pozorování, viz graf č.6.

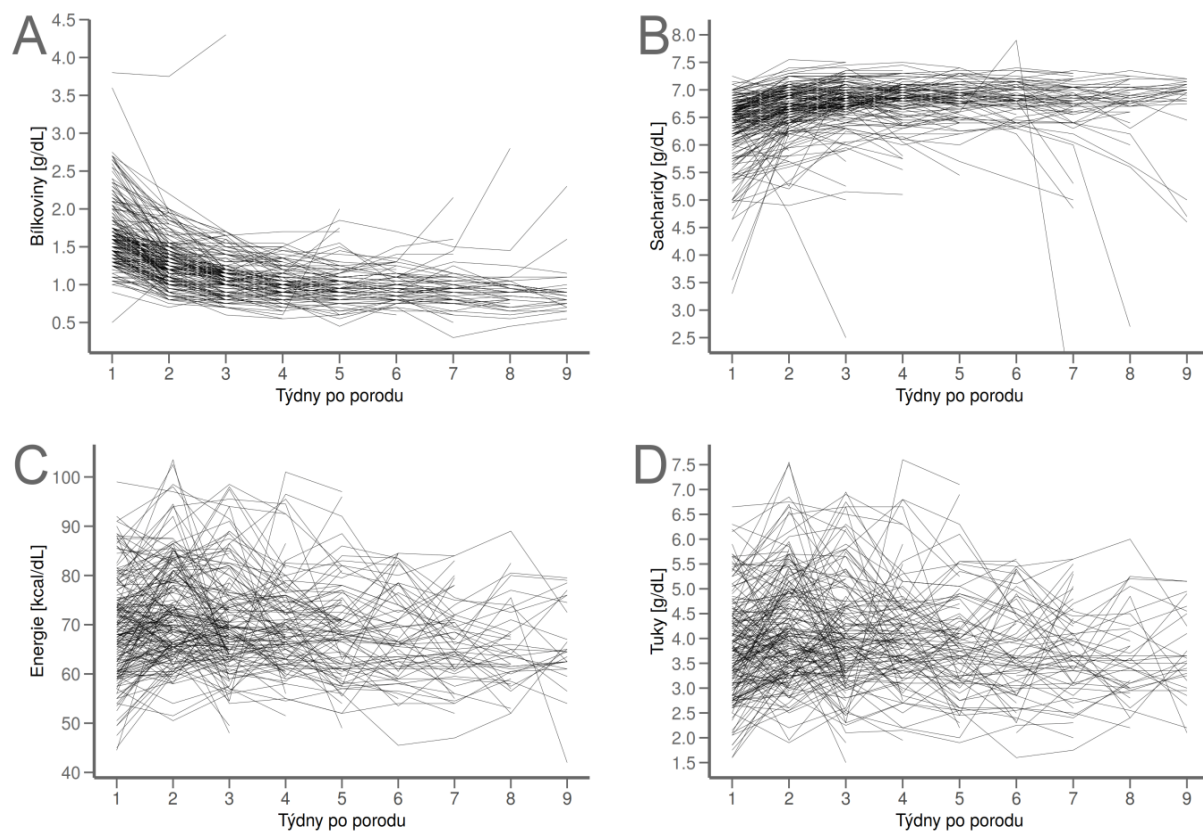
Tabulka č. 13 Celkový obsah bílkovin, sacharidů, tuků a energie v mateřském mléce po předčasném porodu během prvních 9 týdnů

Týden	Počet matek Celkem A / B	Počet vzorků Celkem A / B	Bílkovina (g/100ml)	Sacharidy (g/100ml)	Tuk (g/100ml)	Energie (kcal/100ml)
			medián (IQR)	medián (IQR)	medián (IQR)	medián (IQR)
1	189 69 / 120	372 132 / 240	1,6 (1,4 - 1,9)	6,5 (6,1 - 6,7)	3,7 (2,9 - 4,7)	69,0 (61 - 77)
2	190 70 / 120	373 135 / 238	1,3 (1,1 - 1,5)	6,7 (6,5 - 6,9)	4,0 (3,4 - 5,0)	71,0 (65 - 80)
3	159 65 / 94	298 122 / 176	1,1 (0,9 - 1,2)	6,8 (6,6 - 7,1)	3,9 (3,2 - 4,8)	69,0 (63 - 76)
4	117 58 / 59	224 112 / 112	1,0 (0,9 - 1,2)	6,9 (6,6 - 7,0)	3,9 (3,3 - 4,7)	68,0 (63 - 75,2)
5	88 54 / 34	163 101 / 62	1,0 (0,8 - 1,1)	6,9 (6,6 - 7,0)	3,8 (3,1 - 4,6)	68,5 (61 - 75)
6	68 48 / 20	128 91 / 37	0,9 (0,8 - 1,1)	6,9 (6,6 - 7,1)	3,7 (3,0 - 4,5)	67,0 (60 - 74,2)
7	57 42 / 15	106 78 / 28	0,9 (0,8 - 1,1)	6,8 (6,5 - 7,0)	3,6 (3,0 - 4,4)	65,0 (59 - 71,8)
8	39 28 / 11	72 52 / 20	0,9 (0,8 - 1,0)	6,8 (6,7 - 7,0)	3,6 (3,0 - 4,4)	65,0 (60 - 73)
9	27 20 / 7	50 38 / 12	0,9 (0,7 - 0,9)	7,0 (6,8 - 7,1)	3,7 (3,4 - 4,2)	66,0 (63 - 70,5)

Zkratky: IQR = interkvartilový rozsah

Počet odebraných vzorků a počet matek poskytujících vzorky jsou prezentovány celkem a samostatně pro skupinu A / B. Mediány a IQR (1. kvartil – 3. kvartil) jsou vyjádřeny pro skupiny A a B dohromady.

Graf č. 6 Bílkoviny (A), sacharidy (B), energie (C) a tuky (D) v mateřském mléce po předčasném porodu během 9 postnatálních týdnů



Po statistickém zpracování vztahu mezi mateřskými charakteristikami a složením MM výsledků zůstaly parita, způsob porodu, kouření a BMI před těhotenstvím jedinými faktory, které byly asociovány s obsahem makronutrientů jak kolostra, tak i zralého MM v různém rozsahu. Věk matky vykazoval statisticky významnou souvislost s některými složkami MM, během následujících týdnů po porodu se ale postupně vliv věku na složení MM minimalizoval, vliv parity byl zřetelnější, obě proměnné byly korelovány (průměrný věk pro matky primipary byl 29,9 let, průměrný věk u matek multipar byl 33,2 let, t-test, $p < 0.001$).

5.2.1. Kolostrum

Výsledky vícenásobné regresní analýzy změřených hodnot kolostra a mateřských charakteristik jsou uvedeny v tabulce č. 14.

Tabulka č. 14 Vícenásobná regresní analýza faktorů spojených s obsahem makronutrientů v kolostru (regresní koeficienty).

	Parita	Způsob porodu	Kouření	BMI
	Multipara vs. primipara	Vaginální vs. císařský	Kuřák vs. nekuřák	Více 30 vs. pod 30
Bílkovina	-0.115**	Ns	Ns	Ns
Sacharidy	0.260**	0.199*	Ns	Ns
Tuky	Ns	Ns	Ns	Ns
Energie	Ns	Ns	Ns	Ns

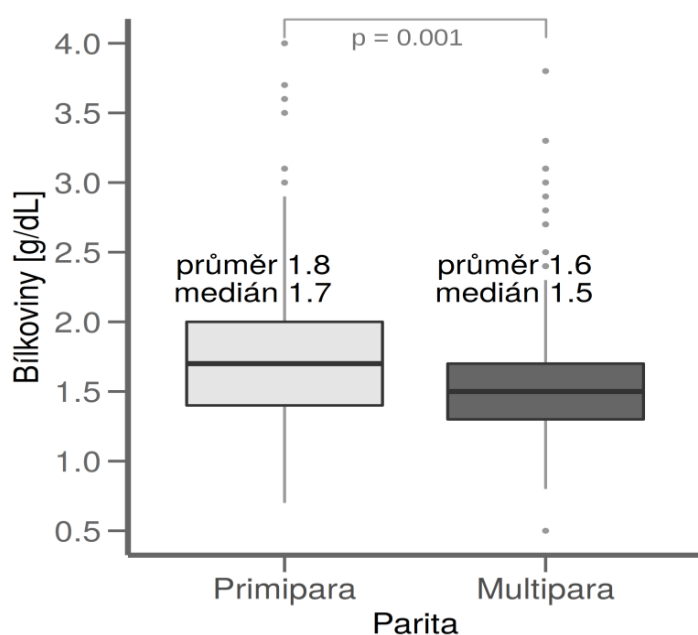
Zkratky: Hodnoty p označují významné rozdíly. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$;

NS: nevýznamné. BMI = body mass index.

Obsah bílkovin byl vyšší u matek primipar ($p = 0,001$). V průměru měl vzorek mleziva primipary o 0,19 g/dl více bílkoviny než vzorek mleziva multipary (graf č. 7). Obsah sacharidů v mlezivu pozitivně koreloval s paritou. Matky multipary měly vyšší obsah sacharidů než

primipary (v průměru o 0,26 g/dl, $p = 0,003$). V modelu, který již zahrnoval paritu, měl způsob porodu statisticky významnou roli: vaginální porod byl spojen se zvýšeným obsahem sacharidů o 0,20 g /dl, $p = 0,021$ (graf č. 8). Obsah tuku a energie v mlezivu nebyl ovlivněn žádnými mateřskými charakteristikami.

Graf č.7 Obsah bílkovin v kolostru (g/100ml) podle parity

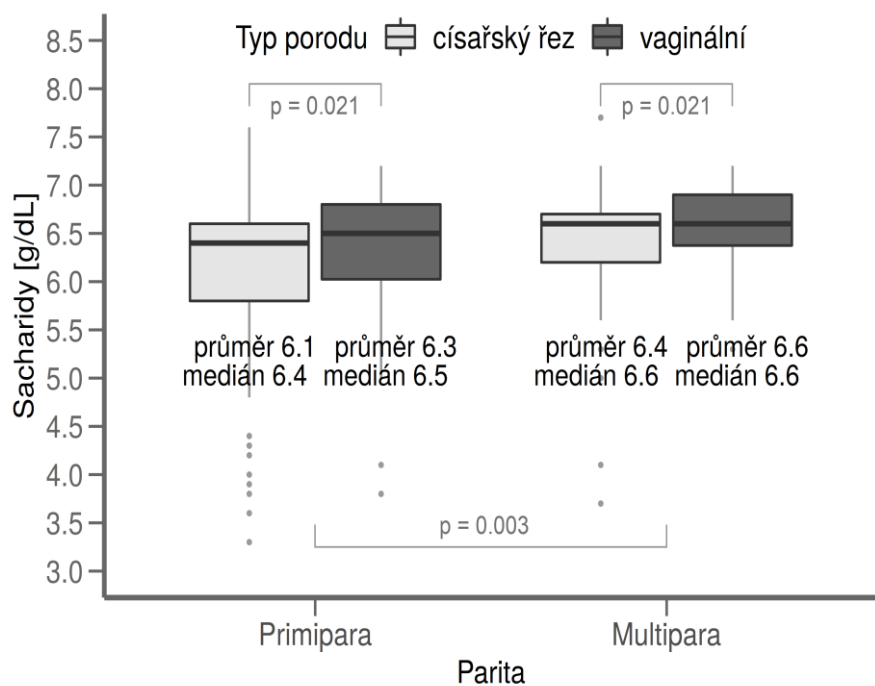


Zkratky: IQR = interkvartilový rozsah

Graf zobrazuje medián (střední čára), IQR (box limity) a odlehlé hodnoty.

$p < 0,05$ statisticky signifikantní rozdíl.

Graf č.8 Sacharidy v kolostru (g/100ml) podle parity a způsobu porodu



Zkratky: IQR = interkvartilový rozsah

Graf zobrazuje medián (střední čára), IQR (box limity) a odlehlé hodnoty.

$p < 0,05$ statisticky signifikantní rozdíl.

5.2.2. Zralé mléko

Výsledky vícenásobné regresní analýzy hodnot zralého MM a mateřských charakteristik jsou uvedeny v tabulce č. 15.

Tabulka č. 15 Vícenásobná regresní analýza faktorů spojených s obsahem makronutrientů ve zralém MM (regresní koeficienty).

	Parity	Způsob porodu	Kouření	BMI	BMI * časová interakce
	Multipara vs. Primipara	Vaginální vs císařský	Kuřák vs. nekuřák	nad 30 vs. pod 30	
Bílkovina	-0,117***	-0,064*	Ns	Ns	Ns
Sacharidy	0,123*	0,150**	Ns	Ns	Ns
Tuky	Ns	Ns	-0,564**	-0,312 #	0,135 *
Energie	-0,034*	Ns	-0,065**	-0,041 #	0,020 **

Zkratky: Ns = nevýznamné

BMI = Index tělesné hmotnosti

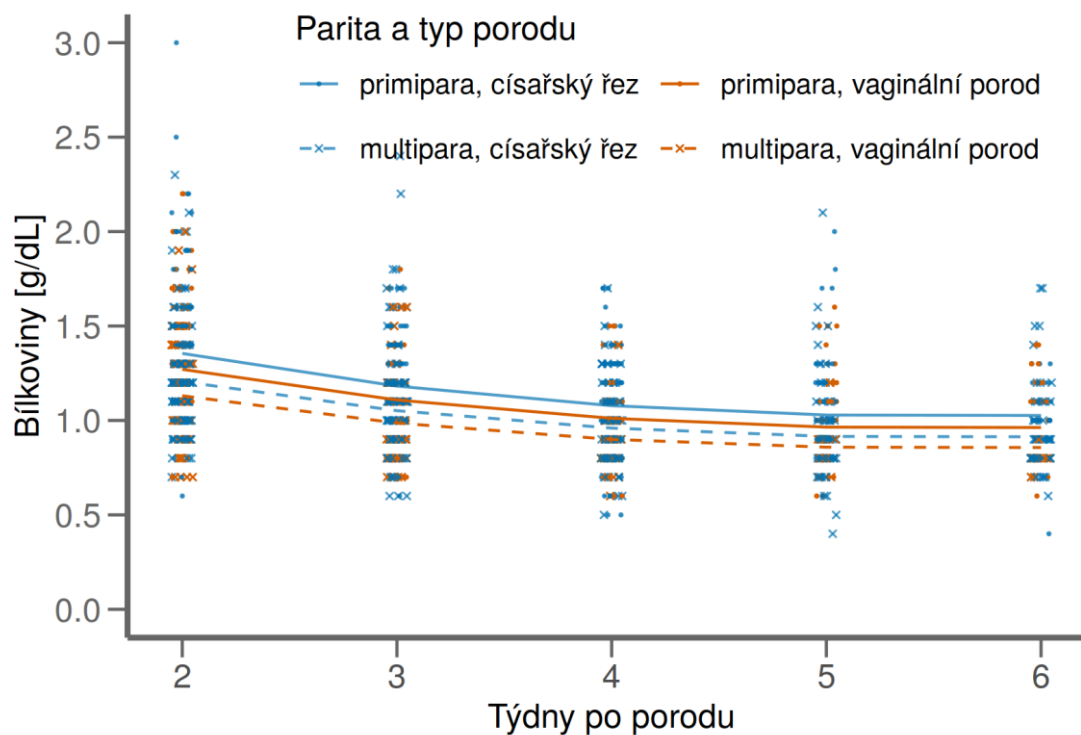
p <0,05 statisticky signifikantní rozdíl, * p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001

nevýznamné, ale prokázaná interakce s časem

5.2.2.1. Bílkovina

Podobně jako v mlezivu měly primipary po celou dobu studie vyšší hladinu bílkovin než multipary ($p < 0,001$). Způsob porodu byl dalším faktorem spojeným s hladinami bílkovin ($p = 0,036$). U daného způsobu porodu byl obsah bílkovin ve zralém mléce u multipary v průměru o 0,12 g/dl nižší než u primipary. Pro danou paritu měly matky s vaginálním porodem nižší obsah bílkovin, v průměru o 0,07 g/dl nižší než u matek, které rodily císařským řezem, viz graf č. 9.

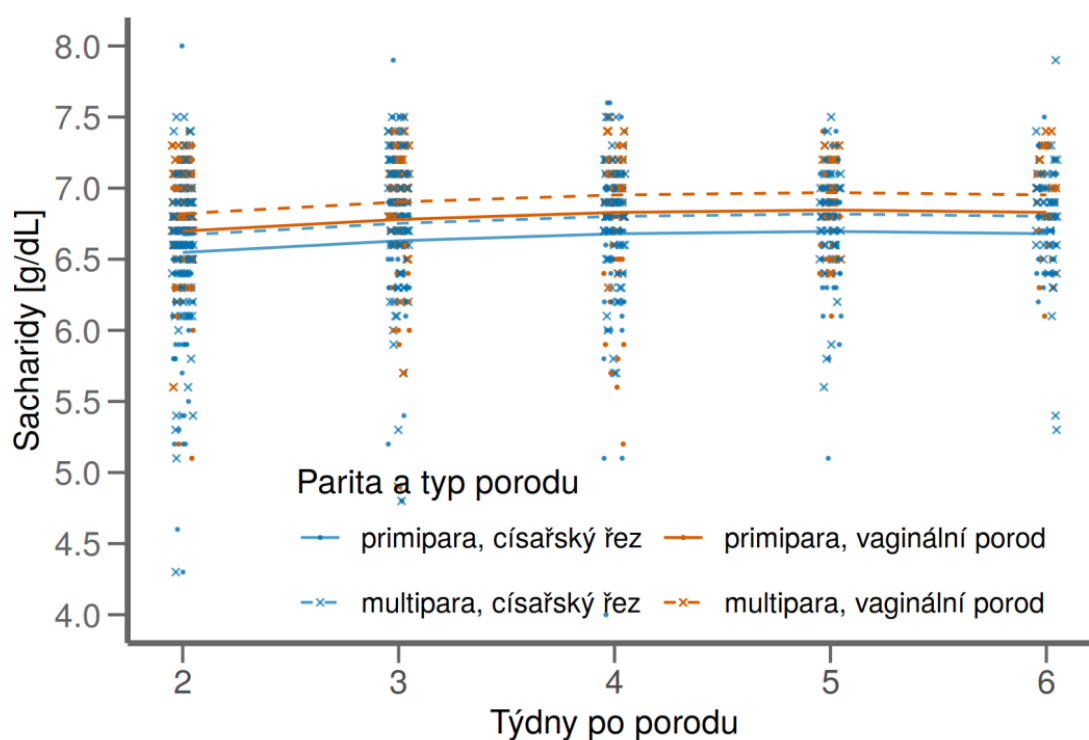
Graf č. 9 Vztah mezi paritou, způsobem porodu a obsahem bílkoviny v MM



5.2.2.2. Sacharidy

Parita ($p = 0,022$) a způsob porodu ($p=0,003$) vykazovaly asociaci s obsahem sacharidů. Podobně jako u mleziva byl obsah sacharidů v mléce primipary nižší než u multipary (o 0,12 g/dl). Po vaginálním porodu byl obsah sacharidů vyšší než po císařském řezu, ale rozdíl (o 0,15 g/dl) byl méně výrazný při srovnání s kolostrem (graf č.10).

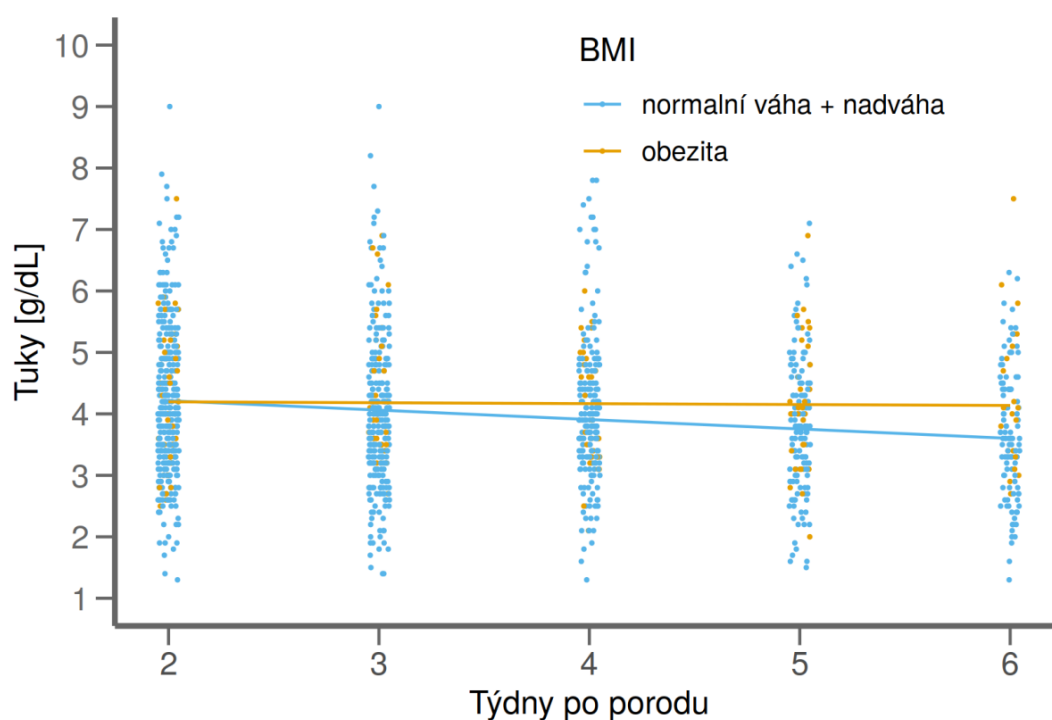
Graf č. 10 Vztah mezi paritou a způsobem porodu na obsah sacharidů v MM



5.2.2.3. Tuk

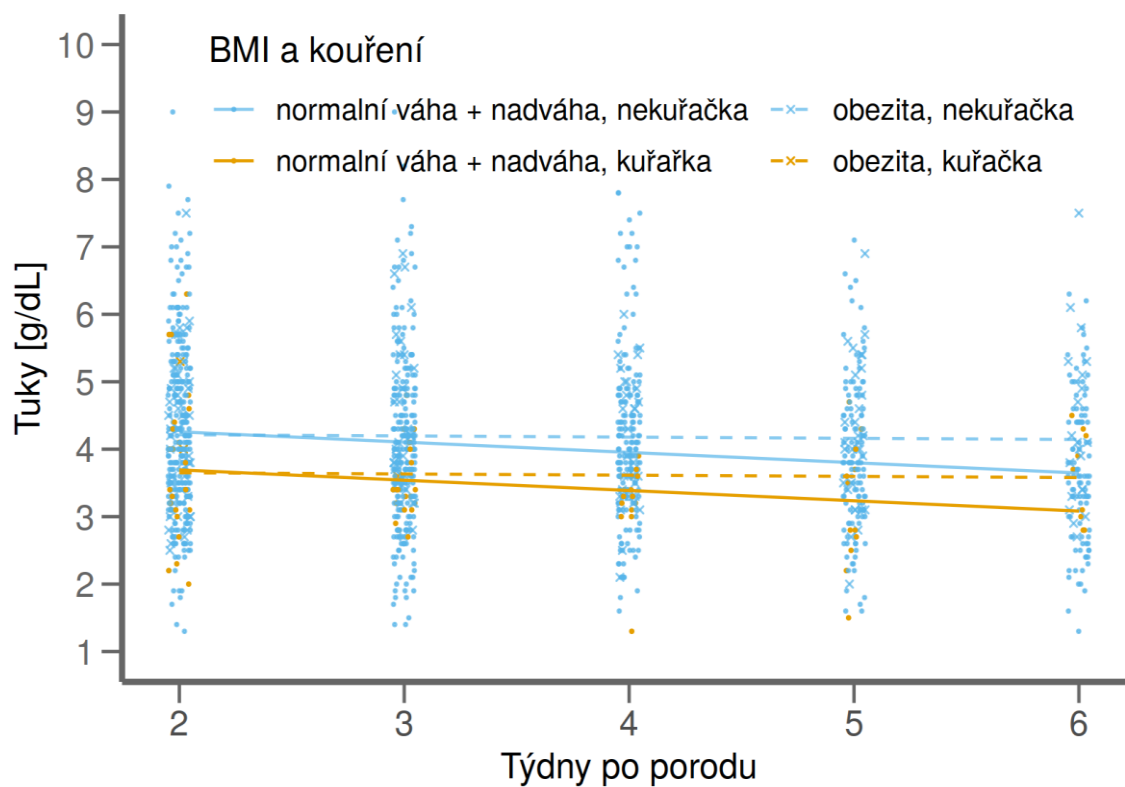
V průměru se obsah tuku v průběhu postnatálních týdnů snižoval. V našich údajích to však platilo pro matky s normální váhou a lehkou nadváhou; obsah tuku u obézních matek zůstal v průběhu studie stejný (statisticky významná interakce BMI před těhotenstvím s časem, $p=0,030$). Do 6. týdne byl průměrný rozdíl v obsahu tuku MM mezi obézními a normálními matkami s nadváhou 0,50 g/dl (graf č. 11). Obsah tuku byl nižší v MM u matek kuřáček ($p=0,026$) o 0,56 g/dl ve srovnání s nekuřáčkami (graf č. 12).

Graf č. 11 Vztah mezi BMI matky a obsahem tuků ve zralém MM po předčasném porodu během 6 postnatálních týdnů.



Zkratky: BMI = body mass index

Graf č.12 Obsah tuku ve zralém MM podle BMI před těhotenstvím a kouření během 6 postnatálních týdnů.

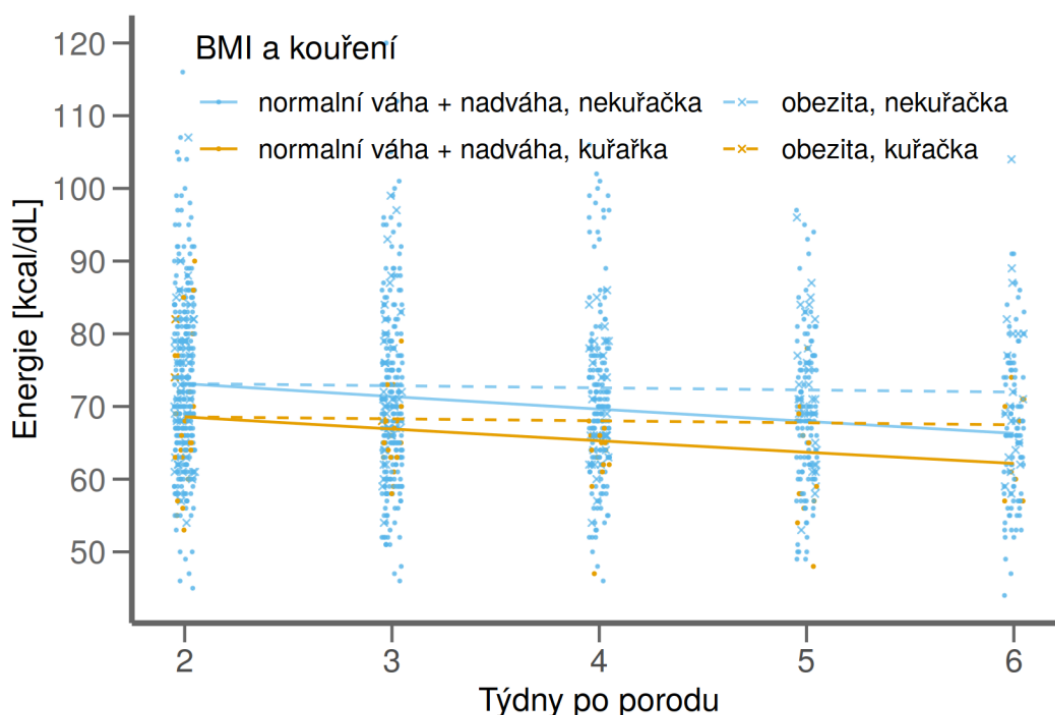


Zkratky: BMI = body mass index

5.2.2.4. Energie

Dynamika změn v energii MM vykazovala podobný trend jako u tuku. Obsah energie v mléce koreloval s BMI před těhotenstvím ($p=0,020$ v interakci s časem). U obézních matek zůstal energetický obsah podobný v celém období od 2. do 6. týdne. U skupiny matek s normální hmotností a s lehkou nadváhou se obsah energie MM postupně snižoval během 6 týdnů o 6,5 kcal/dl, zatímco u obézních matek se snížil pouze o 1,1 kcal/dl, viz graf č. 13. Multipary měly o 2,3 kcal/dl nižší obsah energie ve srovnání s prvorodičkami ($p = 0,030$). Zralé MM matek kuřáček mělo o 4,4 kcal/dl nižší obsah energie než MM nekuřáček ($p=0,007$).

Graf č. 13 Energetický obsah ve zralém mléce (kcal/dl) podle BMI a parity během 6 postnatálních týdnů.



Zkratky: BMI = Index tělesné hmotnosti

6. Diskuse

O rozdílu mezi obsahem MM matek po předčasném porodu a po porodu v termínu se diskutovalo v odborné literatuře řadu let (Anderson, 1984). V minulosti autoři ve svých studiích popisovali MM po předčasném porodu jako mléko s vyšší koncentrací bílkovin a natria a s nižším obsahem kalcia a fosfátu v porovnání s MM po termínovém porodu (Gross, 1981; Lemons, 1982; Nutrition Review, 1983). V posledních 10 letech se s novými analytickými metodami MM začalo objevovat více prací, které se věnovaly obsahu MM i po porodu extrémně a středně nezralého novorozence.

6.1. Bílkovina

V roce 2011 Bauerová a kol. detekovali vyšší koncentrace bílkoviny v MM po předčasném porodu než u termínových porodů, hodnoty bílkoviny v byly v prvním měsíci laktace závislé na stupni nedonošenosti (Bauer, 2011). V mléce matek, které porodily dítě ve 23.-24. g.t., byla popsána koncentrace bílkoviny 2,7 – 3,0 g/100 ml. U matek, které porodily později (32.-33. g.t.), byl obsah bílkoviny v MM nižší (1,8 – 2,3 g/100 ml). V této studii autoři použili biochemickou metodu podle Lowry a Petersena, skupina matek po porodu extrémně nezralého novorozence byla poměrně malá (22 matek). Další studie nález vyšší bílkoviny po předčasném porodu již nepotvrdily, naopak se opakoval nález klesající bílkoviny už v prvních postnatálních týdnech (Faerk, 2001; Zachariassen, 2013). Faerk a kol. analyzovali celkem 476 vzorků MM (101 matek) po porodu před 32. g.t. Vzorky se analyzovaly 1x týdně do 36. gestačního týdne. Koncentrace bílkoviny signifikantně klesala k hladině ekvivalentní MM po termínovém porodu. Autoři neprokázali žádnou korelaci mezi obsahem makronutrientů v MM a gestačním týdnem (Faerk, 2001). Dánská práce analyzovala koncentraci makronutrientů v mléce po porodu před 32. týdnem gestace (celkem 736 vzorků) (Zachariassen, 2013). Obsah bílkoviny byl 1,76g/100 ml (medián) s rozsahem 1,06 – 2,96 g/100 ml, opět byl popsán

signifikantní pokles v prvních 8 týdnech po porodu (medián 1,33 g/100 ml). V roce 2014 byla publikovaná metaanalýza zahrnující 26 studií, která byla ale zatížena tím, že studie měly nejednotnou metodiku a obsahovaly malé soubory ($n = 8-101$), jednalo se o průřezové studie publikované od roku 1983 do roku 2005. Metaanalýza potvrdila, že obsah bílkoviny v MM po předčasném porodu v prvním týdnu života klesá v podobné dynamice jako po porodu v termínu (Gidrewicz, 2014). Obsah bílkoviny byl popsán v prvních dnech laktace s průměrem 2,7 g/100 ml, poté klesal. Složení MM se ukázalo být relativně stabilní od 3. postnatálního týdne. Závěr metaanalýzy je ve shodě s naším pozorováním, naše naměřené koncentrace bílkoviny klesaly z původní hodnoty 1,72 g/100ml (medián) u skupiny A, u skupiny B z hodnoty 1,65 g/100ml (medián) koncem 1. týdne na koncentraci 1,1 g/100 ml (medián) po 3 týdnech u obou skupin. Dále se hodnoty stabilizovaly a pohybovaly se mezi 0,9-1,0 g/100 ml.

6.2. Sacharidy

Koncentrace sacharidů měla opačnou dynamiku, byly zaznamenány zvyšující se hodnoty během prvního postnatálního týdne, koncentrace se lehce zvyšovala z 6,4-6,5g/100 ml na konci 1. týdne na hodnoty 6,9-7,5g/100 ml, tato koncentrace zůstávala trvalá až do konce 9. týdne. Předchozí práce popsaly podobný nález při změně kolostra (s nižším obsahem sacharidů) na zralé mléko (Maas, 1998; Underwood, 2013; Paul, 1997). V dalších týdnech byl obsah sacharidů relativně stabilní. Na rozdíl od ostatních makronutrientů je koncentrace sacharidů v mléce různých matek poměrně konzistentní s variabilitou 2–4 %, která je nezávislá na mateřské stravě a nutričním stavu (Lönnerdal 1976, Butte, 1981; Narang 2006). Interindividuální variace v obsahu sacharidů se nelišily mezi studiemi (Zachariassen, 2013; Gidrewicz, 2014). V literatuře se uvádí, že koncentrace laktózy, která je dominantním sacharidem MM, určuje objem mléka tvořeného v mléčné žláze (Picciano, 2009). Laktóza se tvoří v Golgiho aparátu, odtud je uvolňována v transportních váčcích, uvnitř těchto váčků způsobí laktóza hypertonické prostředí a do váčku začne z cytosolu prostupovat voda. Laktóza tedy ovlivňuje spíše množství vody

v mléce, spolu se sekrecí elektrolytů a syntéza laktózy přispívá k osmolaritě MM (Maas, 1998; Lemons, 1982). V naší studii jsme spojitost mezi objemem MM a hladinou sacharidů neověřovali, protože jsme nezvažovali provádět 24 hodinový sběr mléka, produkce mléka nebyla u jednotlivých matek zaznamenána. Hlavním důvodem byla skutečnost, že jsme nechtěli narušovat pravidelné kojení/přikládání, které je pro tuto rizikovou skupinu důležité (sběr/24 hodin by znamenal 2 dny v týdnu dítě nekojit ani nepřikládat k prsu). Navíc by v den analýzy děti nedostaly čerstvé nativní mléko, což by bylo z imunologického hlediska rizikové.

6.3. Tuky

Obsah tuku v MM po předčasném porodu se v našem longitudinálním sledování během prvního a druhého týdne zvyšoval, v rámci sledování obsahu tuků se prokázala velká interindividuální variabilita. Tyto nálezy byly ve shodě s předchozími analýzami (Zachariassen, 2013; Gidrewicz, 2014; Paul 1997). Variabilita tuků je obecně popisována jako jev, který může být inter i intraindividuální. V naší práci jsme se snažili zamezit rozdílům v obsahu tuků, které by vznikly při manipulaci mléka (např. přelévání, zahřívání), a proto byla nastavena striktní metodika odběru, odběr prováděla pouze odpovědná neonatologická sestra nebo neonatolog. Vzorky byly získány pouze na novorozeneckých odděleních odstříkáním odsávačkou nebo manuálně po kompletním vyprázdnění celého prsu, aby se neuplatňoval rozdíl v obsahu tuků mezi tzn. přední a zadní frakcí mléka. Další faktor, který byl diskutován, byl vliv mražení MM na nutriční obsah. Této problematice se věnovala řada prací, které sledovaly, zda dochází ke změnám složení MM po krátkodobém nebo dlouhodobém uskladnění při nízkých teplotách (-18 st.C až -20 st.C). Systematický přehled, kam bylo v konečné regresní analýze zařazeno 8 studií, nezjistil při mražení MM v délce trvání od 1 dnu do 3 měsíců žádné významné změny v obsahu bílkovin, laktózy, tuku nebo energie (Yochpaz, 2020). Naše práce prokázala, že se statisticky koncentrace tuků mezi skupinami s lehkou a těžkou nezralostí nelišila. Velká interindividuální variabilita v tucích byla ale důvodem, proč byly pozorovány velké rozdíly i

v obsahu energie mezi jednotlivými vzorky. Energie MM se pohybovala v rozmezí od 51 - 99 kcal/100ml ve skupině A a 46 - 105 kcal/100ml ve skupině B na konci třetího týdne, 58-71 kcal/100ml na konci 9. týdne.

Tento nálezn má klinický význam, který je nutný při nutriční strategii zohlednit. V případě výživy neprospívajícího nezralého dítěte nebo dítěte s velkými energetickými nároky a s nutnou restrikcí tekutin (např. dítě s BPD, s oteřenou tepennou dučejí) se může deficit kumulovat již během prvních 3 týdnů (pro dítě s hmotností 1000g, při příjmu 150ml/kg/den by znamenal rozdíl v kalorické náloži MM/týden zhruba 200 kcal).

6.4. Přínos projektu č.1 a klinická aplikace výsledků

Naše práce v porovnání s předchozími studiemi zahrnuje dosud největší soubor matek a analyzovaných vzorků MM (celkem 1917 vzorků) s velkým zastoupením skupiny s těžkou nezralostí (969 vzorků, 50,5%). Současne jako první longitudinální analýza MM objasnila vztah mezi stupněm nezralosti a složením MM. Po celou dobu studie nebyl pozorován statisticky signifikantní rozdíl ve složení MM mezi vzorky skupiny těžké a střední nezralosti. Důležitým nálezem byl fakt, že obsah bílkoviny byl u téměř 79 % vzorků nižší než 1,5 g/100 ml a 48 % vzorků mělo energetický obsah nižší než 67 kcal/dl, což byla původní referenční hodnota, kterou jsme očekávali a se kterou kalkulují nejen neonatologové, ale i výrobci fortifikátorů (Gomella, 2009). Získaná data mají klinické uplatnění v oblasti péče o velmi nezralé novorozence, kdy naše výsledky analýz MM a konstruované percentilové grafy mohou sloužit jako základ pro nutriční strategii v prvních postnatálních týdnech, mohou upozornit v případě počínající růstové restrikce na nutnost analýzy konkrétního MM. Průměrné hodnoty a percentilový graf mohou poskytnout přesnější odhad obsahu bílkoviny, energie a pomoci přizpůsobit adekvátní suplementaci, resp. snížit riziko EUGR pro populace VLBW a ELBW.

Publikované výsledky analýzy MM také nabízí možnosti pro potravinářské společnosti inovovat složení současných fortifikátorů, především navýšit obsah bílkoviny a energie.

Naše data z prvního projektu již byla použita v recentní kanadské prospektivní studii, která si dala za cíl zkusit nový model fortifikace (Pillai, 2020). Jednalo se o modifikovaný způsob obohacení MM tak, aby bylo dosaženo s větší úspěšností doporučeného příjmu bílkoviny a energie při výživě ELBW a VLBW, než tomu bylo při standardním způsobu fortifikace. Studie využila výsledků naší a dvou zahraničních analýz (Malý, 2019; Cooper, 2013; Mimouni, 2017). Metoda tzn. korigované fortifikace byla postavena na podkladě publikovaných dat o složení MM a dat o změnách koncentrací makronutrientů v jednotlivých postnatálních týdnech. Autoři použili nové dávkovací schema, kde se podává fortifikátor a ev. další supplement. Děti byly randomizovány do dvou skupin, první byla enterálně krmena MM se standardní fortifikací, druhá MM s korigovanou fortifikací. Autoři současně analyzovali vzorky MM (celkem 450 vzorků) pomocí analyzátoru HMA. Byl porovnán podíl vzorků v obou skupinách, ve kterých bylo dosaženo cílového doporučeného příjmu. Žádný ze vzorků se standardním dávkováním nenaplnil cílový obsah makronutrientů během dalších postnatálních týdnů (≥ 5 týdnů). Doporučeného příjmu bílkoviny a energie bylo dosaženo v 68 % vzorků MM s korigovanou fortifikací ve srovnání s 5% vzorky se standardním modelem ($p < 0,0001$). U více než 40 % dětí se standardním přístupem byl zaznamenán pokles z-skóre hmotnosti $\geq 0,8$ SD v průběhu 8 postnatálních týdnů. Osmolalita MM byla v mezích normy u obou modelů fortifikace. Autoři v závěru vyjádřili možnost navrhnout korigovanou fortifikaci jako nový model výživy, který by byl z hlediska klinického využití a finančních nákladů přijatelný pro většinu perinatologických pracovišť (Pillai, 2020). Analyzátory MM ještě nejsou považovány za standardní vybavení neonatologických pracovišť, měření obsahu makronutrientů M, má svoje omezení, denní analýza MM je ekonomicky a provozně náročná. Z tohoto pohledu se korigovaná fortifikace jeví jako pragmatický model využívající současné znalosti o složení MM

a využívající běžně dostupné fortifikátory a suplementa (proteinový supplement, MCT olej, glukózové polymery).

6.5. Vztah mezi mateřskými charakteristikami a obsahem základních nutrientů

Širší využití metody IR spektroskopie umožnilo zajímat se i o to, v jakém vztahu mohou být některé mateřské charakteristiky jako je věk, parita, váha aj. ke složení MM. Např. vztah mateřského BMI ke složení mléka byl popsán v několika studiích, většina analýz ale zahrnovala matky po termínovém porodu. Tyto studie nebyly longitudinální a soubory matek – dárkyň byly většinou malé. Pouze jedna větší studie sledovala vztah kouření, věku matky, indexu tělesné hmotnosti (BMI) matky a parity ke koncentraci nutrientů a imunoglobulinu A v MM po termínové graviditě (Bachour, 2012).

6.5.1. Vztah mezi nutričním stavem, resp. BMI matky a obsahem základních nutrientů

Za jeden z podstatných faktorů podílejících se na dostatečné hladině tuků a energie MM se považoval nutriční stav matky. V osmdesátých letech Butte a kol. neprokázali žádnou souvislost mezi nutričním stavem matek a hladinami mléčného tuku, zatímco studie prováděné u matek v rozvojových zemích popsaly tuto spojitost jak na počátku laktace, tak i po 3 měsících po porodu (≥ 90 dní) (Brown, 1986; Prentice, 1981). Více prací sledujících tuto problematiku MM po termínové graviditě bylo publikováno především v posledních deseti letech. Dvě studie analyzující vztah mezi trofikou matky a složením kolostra popsaly protichůdné údaje (Mangel, 2017; Fujimory, 2015). Naopak ve zralém MM byl vyšší BMI nebo velký přírůstek hmotnosti během těhotenství asociován s vyšší hladinou tuku ve 3 studiích (Bachour, 2012; Zaidan, 2013; Bzikowska-Jura, 2018). Důvodem vyššího obsahu tuku v MM u matek s nadváhou by mohly být vyšší hladiny triglyceridů v krvi u obézních. Dalším možným mechanismem může být oxidační stres a zánět způsobený obezitou s metabolickými důsledky pro MM (Young, 2017).

Podstatně méně informací máme o vlivu mateřských charakteristik na složení mléka po předčasném porodu (Dritsakou, 2017; Zachariassen 2013). Tři práce sledovaly vztah mezi obezitou (resp. vyšším BMI matky) a složením MM po předčasném porodu (Dritsakou, 2017; Zachariassen 2013; Hascoet 2019). U žen s vyššími hodnotami BMI po porodu byly nalezeny vyšší hodnoty tuku a energie, autoři našli interindividuální variabilitu: sacharidy 6,8 (4,4-7,3), lipidy 3,4 (1,3-6,4), bílkoviny 1,3 (0,1-3,1) medián (rozsah) g/100 ml. Byl pozorován pokles bílkoviny s rostoucím postnatálním věkem dítěte a asociace mezi koncentrací lipidů a kouřením. Je nutné zdůraznit, že pro matky po předčasném porodu (od 24.gt. do 37 g.t.) neexistuje žádný relevantní index pro BMI při porodu, proto jsme v naší práci zvolili za charakteristiku BMI před graviditou. Naše výsledky ukázaly na spojitost BMI s obsahem tuků v MM. Matky s $BMI \geq 30$ před těhotenstvím vykazovaly vyšší obsah tuku a energie v MM, průměrný rozdíl mezi matkami s $BMI < 30$ vs. $BMI \geq 30$ v obsahu tuku byl 0,5 g/dl, což při kalkulaci průměrného příjmu MM 150ml/kg/den a velké variability mezi matkami může znamenat rychlý kumulativní deficit tuku už v prvních týdnech a byl by indikací pro nutriční intervenci.

6.5.2. Vztah mezi paritou a obsahem základních nutrientů

Dříve se předpokládalo, že parita neovlivňuje složení MM, ačkoli k tomuto tvrzení neexistovala žádná jasná data. V animální studii (opice Makak dlouhochvostý) byly zjištěny určité rozdíly v objemu produkovaného mléka mezi multiparou a primiparou. Multipary produkovaly větší množství mléka a současně byly zaznamenány větší hmotností přírůstky u kojených opiček (Hinde, 2009). Pouze několik humánních studií sledovalo vliv parity na složení kolostra nebo zralého MM, opět byly zahrnuty matky po porodu vtermínu. V roce 1996 Prentice a spol. popsala vyšší koncentrace bílkoviny v MM u mladších matek, kde byla zastoupena i nižší parita (Prentice, 1996). Zkoumala i vztah mezi stravou, paritou a složením mastných kyselin zralého MM venkovských afrických matek a zjistila, že podíl endogenních

mastných kyselin byl výrazně snížen ve skupině matek s velmi vysokou paritou. Autorka studie předpokládala, že tento nálezn představuje sníženou schopnost syntézy mastných kyselin de novo u multipar (Prentice, 1989). Mangel a kol. popsal v kolostru trend ke snížení obsahu proteinů se zvyšujícím se počtem porodů (Mangel, 2017). U zralého MM prezentovala libanonská studie pozitivní asociaci mezi paritou a hladinou tuků a statisticky nevýznamnou asociaci s obsahem sacharidů (Bachour, 2012). Naše práce prokázala asociaci mezi paritou a obsahem sacharidů (vyšší parita byla asociována s vyšším obsahem sacharidů) a mezi paritou a obsahem bílkoviny (vyšší parita byla spojována s nižším obsahem bílkoviny). Počáteční rozdíly pozorované v kolostru mezi primiparou a multiparou přetrvávaly po celou dobu studie. Rozsah, v jakém dochází ke změnám v mléčné žláze po opakovaném porodu je zatím nejasný, jak tyto změny po opakovaných porodech (při stárnutí mléčné žlázy) přispívají ke složení MM, bude jistě v budoucnosti předmětem dalších studií.

6.5.3. Vztah mezi věkem matky a obsahem základních nutrientů

Pokud posuzujeme spojitost změn MM s paritou, nabízí se tuto asociaci uvádět v souvislosti a korelovat s věkem matky (starší matka bude i s vyšší pravděpodobností multipara). Dopad věku matky při porodu na složení MM není dosud dobře znám. Obecně se věk matek při prvním porodu v posledních 20 letech ve většině rozvinutých zemí zvýšil. V České republice v roce 2001 představoval průměrný věk primipary 25,3 let, v roce 2017 28,9 let (czso.cz, 2018). Změny v produkci mléka u starších žen popisovala Kitano a kol., její studie hledala souvislost mezi věkem matky a úspěšností zahájení a tzn. exkluzivitou (výhradností) kojení. Potvrdila, že matky ve věku 35 let a více produkují méně mléka než matky mladší a představují větší riziko, že nebudou kojit výhradně (Kitano, 2016). Není známo, zda snížení produkce mléka je spojeno se změnou obsahu mléčných makronutrientů (Giuffrida, 2016). Publikované práce zaměřené na vztah věku matek ke složení MM také většinou zahrnovaly termínové gravidity (Bachour, 2012; Lubetzky, 2013; Lubetzky, 2015; Hausman, 2013).

Lubetzky hodnotil makronutrienty v kolostru i zralém MM v interakci s věkem u 72 matek. Soubory starších a mladších matek se nelišily v hmotnosti před těhotenstvím a ve stravování. Obsah tuku v kolostru a obsah sacharidů ve zralém mléce byl významně vyšší ve skupině starších matek. V 7. dni a ve 2 týdnech již nebyl obsah tuku věkem matky ovlivněn. Naopak koncentrace sacharidů ve zralém MM pozitivně korelovala s věkem matky po celou dobu pozorování. Podobný trend jsme také zaznamenali, při analýzách byl naznačen zvyšující se obsah sacharidů u starších matek, nález ale nebyl statisticky významný, při interakci s počtem porodů byla parita významnější. Další dvě studie ukázaly, že vzorky MM mladších matek obsahovaly i vyšší hladinu bílkovin než vzorky od starších, parita ale nebyla zařazena do jejich sledovaných charakteristik, proto nelze tuto souvislost komentovat (Dizdar, 2014; Brasil, 1991). Jejich nálezy jsou pouze částečně v souladu s našimi výsledky. U mladších matek jsme pozorovali trend k vyšším koncentracím proteinů, postupně se ale asociace mezi věkem a složením MM minimalizovala, zatímco u parity byla zřetelnější. Naše statistické zpracování nepotvrdilo významnou a nezávislou asociaci mezi makronutrienty MM a věkem matek. Tento závěr je v souladu se studií, která analyzovala MM po předčasném porodu a nenašla spojitost týkající se věku rodičky (Zachariassen, 2013).

6.5.4 Vztah mezi způsobem porodu a obsahem základních nutrientů

O tom, do jaké míry se uplatňuje způsob porodu na změně koncentrace makronutrientů MM, máme málo informací. Porod císařským řezem (SC) má stoupající frekvenci v moderním porodnictví a to nejenom u termínových (frekvence v zemích střední Evropy je 28-38%), ale i u předčasných gravidit. Vztah ke složení MM a nástupu laktace ještě nebyl detailně popsán (Boutsikou, 2011; Signore 2010). Naše výsledky týkající se kolostra i zralého mléka ukázaly určitou asociaci mezi způsobem porodu a obsahem sacharidů. Vyšší obsah sacharidů byl přítomen po vaginálním porodu, rozdíl v obsahu sacharidů byl 0,15 g /100ml, což je z hlediska kliniky nevýznamné. Rozdíly pozorované v MM mezi matkami s císařským a vaginálním

porodem přetrvávaly až do 6. postnatálního týdne. Na rozdíl od naší studie popsal Dizdar v kolostru nižší hladinu bílkoviny u SC, ale je třeba poznamenat, že hmotnost matky a BMI byly významně vyšší ve skupině SC (Dizdar, 2014). Zatím nebylo potvrzeno, že by hormonální faktory spojené s vaginálním porodem zasahovaly do procesu syntézy v mléčné žláze. Naše data ukazují, že způsob porodu má omezený vztah ke složení MM, nicméně tento efekt přetrvával po celou dobu sledování. K vysvětlení a potvrzení těchto nálezů a jejich klinického významu budou nutné další studie.

6.5.5. Vztah mezi nikotinismem matky a obsahem základních nutrientů

Nikotinismus je poměrně závažný faktor, který může ovlivnit objem i kvalitu MM. Obecně je incidence nikotinu v graviditě různá, v USA je frekvence kuřáček mezi gravidními ženami 10 %, ve Švédsku 3 % (Nordhagen, 2020). V naší práci bylo zastoupení kuřáček 6,8 %. V literatuře se uvádí, že velkým problémem je i vysoké procento matek, které přestaly kouřit během gravidity a které se k tomuto návyku rychle po porodu vrací (50-80 % návrat k pravidelné konzumaci cigaret během 6 měsíců po porodu). V současnosti víme, že nikotinismus během gravidity je spojován s poruchami kognitivních funkcí a hypotrofizací plodu. Časně odstavení od prsu, které je u kuřáček frekventnější, spolu s prenatální expozicí kouření ještě zvyšuje riziko opožděného kognitivního vývoje (Nordhagen, 2020). Již dříve se předpokládalo, že kouření navozuje nepříznivé změny MM snížením jeho bioaktivních vlastností, změnou jeho chuti (Mennella 2007; Nordhagen, 2020). Patofyziologické mechanismy, které jsou základem nepříznivých účinků na MM, nejsou ještě podrobně vysvětleny. Nikotin se přenáší do mateřského mléka, kde může snížit produkci mléka supresí receptorů pro prolaktin (Banderali, 2015). Studie prokázaly, že u kuřáček jsou hladiny nikotinu v MM třikrát vyšší než v plazmě (Napierala, 2016). Během normální laktace prolaktin zvyšuje aktivitu lipoproteinové lipázy, která usnadňuje přísun tuku ve formě volných mastných kyselin do mléčné žlázy (Napierala, 2016). Kouření inhibuje aktivitu lipoproteinové lipázy matky. U

matek kuřáček byl prokázán vyšší obsah triglyceridů, cholesterolu a LDL v krvi (Nylander a Matheson, 1989; Chajek-Shaul et al., 1987; Bachour et al., 2012). U kuřáček byl také popsán snížený přenos polynenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem (PUFA) do MM, zejména omega-3 mastných kyselin, které jsou důležité pro vývoj zraku a CNS kojených dětí (Agostoni a kol., 2003). Snížený obsahu tuků v MM může být způsoben i jinými toxickými látkami pocházejícími z cigaret, které se hromadí v tukových tkáních včetně mléčné žlázy, a tím zasahují i do laktogeneze. Pouze několik biochemických analýz se zaměřilo na změny složení MM spojené s kouřením, některé nesledovaly primárně hladiny makronutrientů, ale zaměřily se např. na přítomnost těžkých kovů (kadmium), na aromatické uhlovodíky, jód a jiné komponenty (Ortega 1998; Pulkrabova 2016; Laurberg, 2004; Nishijo 2002, Zanieri, 2007). Při analýze MM naše data ukázala na nižší obsah tuku a energie ve vzorcích kuřáček při porovnání s matkami, které nekouřily. Tento nález je ve shodě s předchozími studiemi, které sledovaly matky po termínovém porodu (Bachour, 2012), i předčasném porodu (Hascoet, 2019). Počet vzorků kuřáček byl však v citovaných studiích poměrně nízký. I v naší studii bylo zastoupení malé (13 kuřáček ze souboru 192 matek).

6.5.6 Vztah mezi výživou matky a obsahem základních nutrient

Existuje řada dalších parametrů týkajících se matky, které byly diskutovány v odborné literatuře a které jsme nezahrnuli do našeho sledování. Dosud není zcela jasné, jakou určující roli pro obsah makronutrientů v MM má výživa matky. Většina původních studií, které sledovaly vztah diety ke složení MM, neposuzovala dietu přímo, detailně nekvantifikovala dietu matky a její souvislost se složením mléka. Výživa matek ovlivňuje složení MM prostřednictvím aktuálního příjmu potravy, nutričních zásob, změnami v utilizaci živin. Příkladem je složení mastných kyselin v MM, které je prokazatelně modifikováno dietou matky (Jensen, 1999). Jinak se ukazuje, že obsah makronutrientů MM u matek donošených dětí je relativně konstantní napříč populacemi (Ballard, 2013). Systematický přehled z roku 2016

zahrnul 36 publikovaných prací, které měly za cíl najít asociaci mezi mateřskou stravou a složením MM. Více jak polovina studií (17 prací) zkoumala vztah mezi dietou a obsahem mastných kyselin v MM. Ostatní studie se zaměřily na spektrum dalších nutričních složek. Podstatné výsledky přinesly pouze 3 studie, které prokázaly asociaci mezi konzumací ryb a vysokou koncentrací kyseliny dokosaheptaenové v MM a 2 studie, které prokázaly pozitivní vztah mezi příjmem vitamínu C a koncentracemi tohoto vitamínu v MM (Bravi, 2016). Zatím je tedy možné konstatovat, že mezi nutrienty s největší korelací jejich hladin v MM k matčině stravě patří polynenasycené mastné kyseliny, zejména DHA.

Jako zajímavost je možné uvést i parameter pohlaví dítěte, který se uvádí ve veterinárním lékařství jako jeden z možných faktorů ovlivňujících složení savčího mléka. Tato skutečnost byla pozorována u savců jako jsou krávy, koně, opice (Hinde, 2009; Hinde 2014). Hinde a kol. uváděli možný vztah mezi pohlavím dítěte/plodu a složením MM. Pouze 2 studie sledovaly možnou genderovou specifičnost skladby u MM. V roce 2010, Powe et al. publikoval vyšší energetické hodnoty u mužského pohlaví dítěte (Powe, 2010). Naproti tomu jiná studie nezaznamela žádný genderový rozdíl v MM (Hahn, 2017). Důvody těchto zjištěných rozdílů zůstávají nejasné. Je možné spekulovat, že se vzhledem k různé trajektorii růstu novorozenců chlapeckého a dívčího pohlaví a k jejich rozdílnému složení těla složení MM přizpůsobuje. S ohledem na minimum studií a variabilitu údajů by tyto domněnky měly být interpretovány opatrně.

6.5.7. Přínos projektu č.2 a klinická aplikace výsledků

Asociace mezi složením MM s charakteristikami matky jsou ještě málo objasněny. Ukazuje se, některé charakteristiky mají různý vztah pro konkrétní nutrient. Získaná data naší studie, která systematicky analyzovala vztah mezi mateřskými faktory a obsahem makronutrientů MM po předčasném porodu na velkém souboru matek, mají klinické uplatnění

v nutriční strategii především z pohledu energetického obsahu MM u matek s BMI pod 30 a matek kuřáček, kde je možné očekávat nižší kalorický obsah MM. Současně při fortifikaci MM bílkovinou lze očekávat u matek multipar nižší obsah bílkoviny. V praxi by znalost změn složení MM při přítomnosti těchto charakteristik pomohla neonatologům upravit fortifikaci výživy dětí z kategorie ELBW, VLBW, nezralých a současně hypotrofických dětí nebo dětí s nutnou restrikcí tekutin, jako je tomu v případě dítěte s BPD nebo při léčbě perzistujícího ductus arteriosus.

6.6. Limitace studie

Závěrem je nutné zmínit i limitace naší longitudinální studie, která spočívá v tom, že nebyl měřen denní objem odšťávaného mléka. Důvod již byl zmíněn v předchozí části diskuze. Studie byla navržena tak, aby minimalizovala dopad na kojení a výživu čerstvým odšťávaným mlékem, což má důležitý protektivní efekt na onemocnění s vysokou úmrtností (sepsa, NEC) (Neu, 2014). 24hodinový sběr se považuje za nejpřesnější metodu kvantifikace makronutrientů MM i vzhledem k diurnálním změnám nutrientů, které se týkají zejména tuků (Moran-Lev, 2015). Ve srovnání s ostatními nutrieny je tuk složkou MM s odhadovanou denní variabilitou 40-50 % ve zralém mléce (Ruel, 1997). Velká část kolísání koncentrací mléčného tuku u matky je způsobena kromě diurnální variability také rozdílem mezi přední a zadní frakcí MM, intervaly mezi krmením a rozdílem mezi prsy (Dror, 2018). Z tohoto důvodu byly vzorky v naší studii odebírány během konstantního časového okna, po jednorázovém kompletním odsátí MM, proto by toto omezení nemělo ovlivnit výsledky analýz.

7. Závěr

V našem projektu jsme prokázali:

- 1) Nebyl prokázán signifikantní rozdíl v obsahu MM matek EBWL a VLBW, což je zásadní údaj pro jejich strategii výživy.
- 2) Koncentrace bílkoviny v prvních 3 týdnech po porodu postupně klesá, ve 4.-9. týdnu zůstává již relativně stabilní. Toto pozorování koreluje se současnými výsledky metaanalýz
- 3) Více než polovina z 1512 analyzovaných vzorků (78,9 %) měla koncentraci bílkoviny nižší než 1,5 g/100 ml a 48,3 % vzorků měla energetický obsah nižší než 67 kcal/dl, – což byla původně hodnota považovaná za referenční pro MM po předčasném porodu. Tyto skutečnosti upozorňují na potřebu vyšší a individuální fortifikace MM, nabízí se možnosti využít výsledky pro inovaci složení současných fortifikátorů, resp. navýšení obsahu bílkoviny.
- 4) Změny koncentrace makronutrientů MM po předčasném porodu jsou asociovány s určitými charakteristikami matky. Vyšší bílkovina a nižší obsah sacharidů byl zjištěn u žen-primipar ve srovnání s MM multipar. Vaginální porod byl asociován s vyšší hodnotou sacharidů v mléce než při porodu císařským řezem. Obezita ($BMI \geq 30$) před těhotenstvím byla spojena se zvýšeným obsahem tuku a s vyšším energetickým obsahem v MM. Naopak, kouření mělo asociaci s nižším obsahem tuku a energie. Uvedené faktory matek by měly být zohledněny v určitých specifických situacích (nedonošené dítě, hypotrofické dítě, neprospívající dítě nebo dítě s BPD), kdy není možné zvyšovat objem MM, ale je nutné přizpůsobit nebo zintenzivnit nutriční strategii pro konkrétní dítě.

- 5) Naše výsledky mohou sloužit jako základ pro nutriční strategii především v prvních postnatálních týdnech nezralého dítěte. Neonatologové dosud nemají možnost pravidelné analýzy MM z technických nebo finančních důvodů. Průměrné hodnoty a percentilový graf mohou neonatologům poskytnout odhad obsahu bílkoviny a energie a jsou vodítkem pro adekvátní suplementaci výživy např. ve formě tzn. korigované fortifikace.

8. Souhrn

Pomalý postnatální růst předčasně novorozenců může být spojen s nízkým obsahem makronutrientů v mateřském mléce. Mateřské charakteristiky mohou být asociovány s některými makronutrienty mateřského mléka, dosud nebyly publikovány žádné definitivní závěry. Cílem dizertační práce bylo vyhodnocení obsahu makronutrientů ve vzorcích mateřského mléka po předčasném porodu během prvních 2 měsíců laktace a určit vztah mezi mateřskými faktory a obsahem makronutrientů v mateřském mléce. V prospektivní observační studii jsme odebíraly vzorky mléka po předčasném porodu mezi 24+0-35+6 g.t. Obsah makronutrientů a energie byly analyzovány infračervenou transmisí spektroskopií. Celkem bylo analyzováno 1917 vzorků. Obsah bílkoviny klesl z 1,6 g/dl ve skupině A a 1,5 g/dl ve skupině B v prvním týdnu života na 1,1 g/dl v obou skupinách na konci týdne 3 a poté zůstal stabilní až do týdne 9. Obsah sacharidů a tuků byl stabilní během celého pozorování, u tuků byly zaznamenány interindividuálními rozdíly. U primipar byl zjištěn vyšší obsah bílkovin a nižší obsah sacharidů ve srovnání s multiparami. Vaginální porod byl asociován s vyšší hodnotou sacharidů v mléce než při porodu císařským řezem. Obezita ($BMI \geq 30$) před těhotenstvím byla spojena se zvýšeným obsahem tuku a s vyšším energetickým obsahem v mateřském mléce. Naopak kouření mělo negativní asociaci k obsahu tuku a energie. Prokázali jsme, že se obsah makronutrientů v mateřském mléce se neliší v závislosti na stupni nezralosti. Obsah bílkovin po předčasném porodu klesal během prvních 3 týdnů laktace, koncentrace byla dale nižší než 1,5 g/100 ml, což byla původně očekávaná referenční hodnota a byla zaznamenána v 79 % vzorků. Při výživě předčasně narozených dětí by měl být zohledněn vliv mateřských faktorů na složení mléka. Analýza makronutrientů MM infračervenou spektroskopií je aplikovatelná metoda pro perinatologická a intermediární centra.

9. Summary

Slow postnatal growth of preterm newborns may be associated with low protein content in human milk. Maternal characteristics may be associated with human milk macronutrients but no definite conclusions have been made to date. Aim was to evaluate the content of macronutrients in human milk samples after preterm delivery during the first 2 months of lactation and determine the relationship of maternal-associated factors on the content of macronutrients in human milk after preterm delivery. Milk samples were collected from mothers after premature birth between 24+0-35+6 weeks. Macronutrients and energy content were analyzed by mid-infrared transmission spectroscopy. A total 1917 human milk samples from were analyzed. Median of protein content decreased from 1.6 g/dL in group A and 1.5 g/dL in group B in the first week of life, to 1.1 g/dL in both groups at the end of week 3, and then remained stable up to week 9. Content of carbohydrates and fat was stable during the whole observation, with interindividual differences. Similarly to colostrum, higher protein content and lower carbohydrates content were observed in primiparous compared to multiparous milk. The mode of delivery was found to be another factor possibly influencing protein and carbohydrate levels. Pre-pregnancy obesity was associated with increased fat and energy content in human milk, smoking had a negative relationship to fat and energy content. Human milk does not differ as a function of degree of prematurity. No difference in milk composition between the groups was identified. Protein content of preterm human milk decreases during the first 3 weeks of lactation, concentration was less than 1,5 g/100 ml, which was expected reference value and was recorded in 79 % of the samples. The impact of maternal factors on human milk composition should be taken into account in a strategy of feeding in premature infants.

10. Použitá literatura

AAP - American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Nutritional needs of the preterm infant. In: Pediatric Nutrition, 8th, Kleinman RE, Greer FR (Eds), American Academy of Pediatrics, Itasca, IL 2019. p.113.

AAP-The American Academy of Pediatrics. Breast feeding and the use of human milk. Pediatrics 2012; 129:e827-841.

Agostini C, Buonocore G, Carnielli V, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Committee on Nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 50:1-9.

Agostoni C, Marangoni F, Grandi F, Lammardo AM, Giovannini M, Riva E, Galli C. Earlier smoking habits are associated with higher serum lipids and lower milk fat and polyunsaturated fatty acid content in the first 6 months of lactation. Eur J Clin Nutr. 2003 Nov;57(11):1466-72. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601711. PMID: 14576760.

Anderson GH. The effect of prematurity on milk composition and its physiological basis. Fed Proc 1984;43:2438-42.

Arslanoglu S, Boquien C-Y, King C, Lamireau D, Tonetto P, Barnett D, Bertino E, Gaya A, Gebauer C, Grovslien A, Moro GE, Weaver G, Wesolowska AM and Picaud J-C (2019) Fortification of Human Milk for Preterm Infants: Update and Recommendations of the European Milk Bank Association (EMBA) Working Group on Human Milk Fortification. Front. Pediatr. 7:76. doi: 10.3389/fped.2019.00076

Arslanoglu S, Corpeleijn W, Moro G, Braegger C, Campoy C, Colomb V, et al. ESPGHAN Committee on Nutrition. Donor human milk for preterm infants: current evidence and research directions. J Pediatr Gastroenterol Nutr. (2013) 57:535-42. doi: 10.1097/MPG.0b013e3182a3af0a

Arslanoglu S, Moro GE, Ziegler EE, The WAPM Working Group On Nutrition. Optimization of human milk fortification for preterm infants: new concepts and recommendations. J Perinat Med. (2010) 38:233-8. doi: 10.1515/jpm.2010.064

Asztalos EV. Supporting Mothers of Very Preterm Infants and Breast Milk Production: A Review of the Role of Galactogogues. Nutrients. 2018;10(5):600. Published 2018 May 12. doi:10.3390/nu10050600

Bachour P, Yafawi R, Jaber F, Choueiri E, Abdel-Razzak Z. Effects of smoking, mother's age, body mass index, and parity number on lipid, protein, and secretory immunoglobulin A concentrations of human milk. Breastfeed Med. 2012;7(3):179-88

Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. Pediatr Clin North Am 2013;60:49-74.

Banderali G, Martelli A, Landi M, et al. Short and long term health effects of parental tobacco smoking during pregnancy and lactation: a descriptive review. *J Transl Med.* 2015;13:327.

Bauer J, Gerss J. Longitudinal analysis of macronutrients and minerals in human milk produced by mothers of preterm infants. *Clin Nutr* 2011; 30:215-220.

Bharwani SK, Green BF, Pezzullo JC, Bharwani SS, Bharwani SS, Dhanireddy R. Systematic review and meta-analysis of human milk intake and retinopathy of prematurity: a significant update. *J Perinatol.* 2016 Nov;36(11):913-920.

Biggs D. Infrared milk analyzer. *J Dairy Sci* 1972;55(5):650–1.

Billard H, Simon L, Desnots E, Sochard A, Boscher C, Riaublanc A, Alexandre-Gouabau MC, Boquien CY. Calibration adjustment of the mid-infrared analyzer for an accurate determination of the macronutrient composition of human milk. *J Hum Lact* 2016;32(3):19–27.

Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum Dev.* (2015) 91:619–22. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2015.09.001

Bombell S, Mc Guire W - Delayed introduction of progressive enteral feeds to prevent NEC in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011 (3)

Boutsikou T, Malamitsi-Puchner A. Caesarean section: impact on mother and child. *Acta Paediatr.* 2011;100(12):1518-22.

Brasil ALV, M.R. Fat and protein composition of mature milk in adolescents. *J Adolesc Health* 1991; 12:365-71.

Bravi F, Wiens F, Decarli A, Dal Pont A, Agostoni C, Ferraroni M. Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2016 Sep;104(3):646-62. doi: 10.3945/ajcn.115.120881. Epub 2016 Aug 17. PMID: 27534637.

Brown KH, Akhtar NA, Robertson AD, Ahmed MG. Lactational capacity of marginally nourished mothers: relationships between maternal nutritional status and quantity and proximate composition of milk. *Pediatrics.* (1986) 78:909–19.

Buffin R, Decullier E, De Halleux V, Loys CM, Hays S, Studzinsky F, Jourdes E, Rigo J, Picaud JC. Assessment of human milk composition using mid-infrared analyzers requires calibration adjustment. *J Perinatol.* 2017 May;37(5):552-557. doi: 10.1038/jp.2016.230. Epub 2017 Jan 26. PMID: 28125098.

Butte NF, Calloway DH. Evaluation of lactational performance of Navajo women. *Am J Clin Nutr* 1981;34:2210–5.

Bzikowska-Jura A, Czerwonogrodzka-Senczyna A, Oledzka G, Szostak-Wegierek D, Weker H, Wesolowska A. Maternal Nutrition and Body Composition During Breastfeeding: Association with Human Milk Composition. *Nutrients.* 2018;10(10)

Committee on Nutrition, Section on Breastfeeding, Committee on Fetus and Newborn. Donor human milk for the high-risk infant: preparation, safety, and usage options in the United States. *Pediatrics* 2017;139(1):e20163440.

Cooper AR, Barnett D, Gentles E, et al. Macronutrient content of donor human breast milk. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013; 98: F539-541.

Cormack BE, Harding JE, Miller SP, Bloomfield The Influence of Early Nutrition on Brain Growth and Neurodevelopment in Extremely Preterm Babies: A Narrative Review. *Nutrients*. 2019 Aug 30;11(9):2029. doi: 10.3390/nu11092029.

Corpeleijn WE, Kouwenhoven SM, Paap MC, van Vliet I, Scheerder I, Muizer Y, et al. Intake of own mother's milk during the first days of life is associated with decreased morbidity and mortality in very low birth weight infants during the first 60 days of life. *Neonatology*. (2012) 102:276–81. doi: 10.1159/000341335

Coviello C., Keunen K., Kersbergen K.J., Groenendaal F., Leemans A., Peels B., Isgum I., Viergever M.A., de Vries L.S., Buonocore G., et al. Effects of early nutrition and growth on brain volumes, white matter microstructure, and neurodevelopmental outcome in preterm newborns. *Pediatr. Res.* 2017 doi: 10.1038/pr.2017.227.

CZSO- <https://www.czso.cz/csu/czso/statistiky>

de Halleux V, Rigo J. Variability in human milk composition: benefit of individualized fortification in very-low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr.* 2013 Aug;98(2):529S-35S. doi: 10.3945/ajcn.112.042689. Epub 2013 Jul 3. PMID: 23824725.

Diekmann M, Genzel-Boroviczeny O, Zoppelli L, von Poblitzki M. *Eur J Pediatr.* 2005 Dec;164(12):714-23. doi: 10.1007/s00431-005-1756-2. Epub 2005 Sep 9. PMID: 16151792

Dizdar EA, Sari FN, Degirmencioglu H, et al. Effect of mode of delivery on macronutrient content of breast milk. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 Jul;27(11):1099-102. doi: 10.3109/14767058.2013.850486. PubMed PMID: 24107128

Domellöf M, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Fewtrell M, Hojsak I, Mihatsch W, Molgaard C, Shamir R, Turck D, van Goudoever J; ESPGHAN Committee on Nutrition. Iron requirements of infants and toddlers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014 Jan;58(1):119-29. doi: 10.1097/MPG.0000000000000206. PMID: 24135983.

Dritsakou K, Liosis G, Valsami G, Polychronopoulos E, Skouroliahou M. The impact of maternal-and neonatal-associated factors on human milk's macronutrients and energy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(11):1302-8.

Dror, D. K., & Allen, L. H. (2018). Overview of Nutrients in Human Milk. *Advances in nutrition* (Bethesda,Md.), 9(suppl_1),278S–294S.

Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, Hurst NM, Schanler RJ. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. *Pediatr Res.* 2003;54:15–19. doi: 10.1203/01.PDR.0000065729.74325.71.

Ehrenkrantz RA, Dusick AM, Vohr BR, et al. Growth in the neonatal intensive care unit influences neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2006; 117:1253-1261.

Ehrenkrantz RA, et al. Postnatal growth curves for extremely low birth weight infants with early enteral nutrition. *Pediatrics* August 1999, 104 (2) 280-289;

Ehrenkrantz RA, Younes N, Lemons JA, et al. Longitudinal growth of hospitalized very low birth weight infants. *Pediatrics* 1999; 104:280.

Eidelman AI. Breastfeeding and the use of human milk: an analysis of the American Academy of Pediatrics 2012 Breastfeeding Policy Statement. *Breastfeeding Med.* (2012) 7:323e4. doi: 10.1089/bfm.2012.0067 20.

Embleton NE, Pang N, Cooke RJ. Postnatal malnutrition and growth retardation: an inevitable consequence of current recommendations in preterm infants? *Pediatrics* 2001; 107:270-273.

Faerk J, Skaft L, Petersen S, Peitersen B, Michaelsen KF. Macronutrients in milk from mothers delivering preterm. *Adv Exp Med Biol.* 2001;501:409-13.

FDA permits marketing of a diagnostic test to aid in measuring nutrients in breast milk FDA 2018. Available from: <http://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-permits-marketing-diagnostic-test-aid-measuring-nutrients-breast-milk>.

FDA, USA. CFR–Code of Federal Regulations–Title 21. Washington, DC: US Department of Health and Human Service, 2019 Jul 10. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=110>.

Fenton TR, Anderson D, Groh-Wargo S, et al. An Attempt to Standardize the Calculation of Growth Velocity of Preterm Infants-Evaluation of Practical Bedside Methods. *J Pediatr* 2018; 196:77.

Fenton, T.R., Kim, J.H. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr* 13, 59 (2013). <https://doi.org/10.1186/1471-2431-13-59>

Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *J Pediatr.* 2014 Mar;164(3):499-504. doi: 10.1016/j.jpeds.2013.10.089.

Fusch G, Rochow N, Choi A, et al. Rapid measurement of macronutrients in breast milk: how reliable are infrared milk analyzers? *Clin Nutr* 2015; 34: 465-476.

Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC Pediatrics* 2014; 14:216-229.

Giuffrida F, Cruz-Hernandez C, Bertschy E, Fontannaz P, Masserey Elmelegy I, Tavazzi I, et al. Temporal Changes of Human Breast Milk Lipids of Chinese Mothers. *Nutrients*. 2016;8(11)

Griffin IJ, Tancredi DJ, Bertino E, et al. Postnatal growth failure in very low birthweight infants born between 2005 and 2015. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2016; 101:F50-F55.

Gross J, Geller J, Tomarelli C. Composition of Breast Milk from Mothers of Preterm Infants *Pediatrics* October 1981, 68 (4) 490-493; (vyšší prto)

Hahn W.H., Song J.H., Song S., Kang N.M. Do gender and birth height of infant affect calorie of human milk? An association study between human milk macronutrient and various birth factors. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017; 30:1608–1612. doi: 10.1080/14767058.2016.1219989.

Hair AB, Blanco CL, Moreira AG, Hawthorne KM, Lee ML, Rechtman DJ, Abrams SA. Randomized trial of human milk cream as a supplement to standard fortification of an exclusive human milk-based diet in infants 750-1250 g birth weight. *J Pediatr.* 2014 Nov;165(5):915-20. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.07.005. Epub 2014 Aug 15. PMID: 25130571.

Hartmann PE, Rattigan S, Saint L, Supriyana O. Variation in the yield and composition of human milk. *Oxf Rev Reprod Biol* 1985;7:118–67.

Hascoët JM, Chauvin M, Pierret C, Skweres S, Egroo LV, Rougé C, Franck P. Impact of Maternal Nutrition and Perinatal Factors on Breast Milk Composition after Premature Delivery. *Nutrients*. 2019 Feb 10;11(2):366. doi: 10.3390/nu11020366. PMID: 30744155; PMCID: PMC6413091.

Hausman M, Mandel D, Domani KA, Mimouni FB, Shay V, Marom R, et al. The effect of advanced maternal age upon human milk fat content. *Breastfeed Med.* 2013;8(1):116-9

Hernell O, Timby N, Domellöf M, Lönnerdal B. Clinical benefits of milk fat globule membranes for infants and children. *J Pediatr.* (2016) 173(Suppl.):S60–5. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.077

Hinde K. Richer milk for sons but more milk for daughters: Sex-biased investment during lactation varies with maternal life history in rhesus macaques. *Am. J. Hum. Biol.* 2009; 21:512–519. doi: 10.1002/ajhb.20917.

Hinde K., Carpenter A.J., Clay J.S., Bradford B.J. Holsteins favor heifers, not bulls: Biased milk production programmed during pregnancy as a function of fetal sex. *PLoS ONE*. 2014; 9:e86169. doi: 10.1371/journal.pone.0086169.

HMBA-Human Milk Banking Association of North America. Guidelines for the establishment and operations of a donor human milk bank. Fort Worth, TX: 2018.

Hoban R, Schoeny ME, Esquerra-Zwiers A, Kaenkumchorn TK, Casini G, Tobin G, Siegel AH, Patra K, Hamilton M, Wicks J, Meier P, Patel AL. Impact of Donor Milk on Short- and Long-Term Growth of Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients*. 2019 Jan 22;11(2):241. doi: 10.3390/nu11020241. PMID: 30678256; PMCID: PMC6412258.

Horbar JD, Ehrenkranz RA, Badger GJ, Edwards EM, Morrow KA, Soll RF, Buzas JS, Bertino E, Gagliardi L, Bellu R. Weight growth velocity and postnatal growth failure in infants 501 to 1500 grams: 2000–2013. *Pediatrics* 2015;136(1):e84–92

Hylander MA, Strobino DM, Pezzullo JC, Dhanireddy R. Association of human milk feedings with a reduction in retinopathy of prematurity among very low birthweight infants. *J Perinatol*. 2001 Sep;21(6):356-62. doi: 10.1038/sj.jp.7210548. PMID: 11593368.

Institute of Health Information and Statistics CZ. 2018. Available from: <https://www.uzis.cz/search/node/porodnictvi>

Isaacs EB, Morley R, Lucas A. Early diet and general cognitive outcome at adolescence in children born at or below 30 weeks gestation. *J Pediatr*. 2009 Aug;155(2):229-34. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.02.030. Epub 2009 May 15. PMID: 19446846.

Jensen RG. Lipids in human milk. *Lipids*. 1999 Dec;34(12):1243-71. doi: 10.1007/s11745-999-0477-2. PMID: 10652985.

Kan E., Roberts G., Anderson P.J., Doyle L.W., Victorian Infant Collaborative Study Group The association of growth impairment with neurodevelopmental outcome at eight years of age in very preterm children. *Early Hum. Dev.* 2008;84:409–416. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2007.11.002.

Kitano N, Nomura K, Kido M, et al. Combined effects of maternal age and parity on successful initiation of exclusive breastfeeding. *Prev Med Rep*. 2016 Jun;3:121-6. doi: 10.1016/j.pmedr.2015.12.010. PubMed PMID: 26844198; PubMed Central PMCID: PMC4733091.

Koenig A, Diniz EMA, Barbarosa SFC, Vaz FAC. Immunologic factors in human milk: the effects of gestational age and pasteurization. *J Hum Lact*. 2005;21:439–43. doi: 10.1177/0890334405280652.

Koletzko B. Human Milk Lipids. *Ann Nutr Metab* (2016) 69(Suppl. 2):28–40. doi: 10.1159/000452819

Kotri G, Fusch G, Kwan C, Choi D, Choi A, Al Kafi N, Rochow N, Fusch C. Validation of correction algorithms for near-IR analysis of human milk in an independent sample set-effect of pasteurization. *Nutrients* 2016;8(3):119.

- Latal-Hajnal B, von Siebenthal K, Kovari H, Bucher HU, Largo RH. Postnatal growth in VLBW infants: significant association with neurodevelopmental outcome. *J Pediatr*. 2003;143(2):163-170. doi:10.1067/S0022-3476(03)00243-9
- Lechner BE, Vohr BR. Neurodevelopmental Outcomes of Preterm Infants Fed Human Milk: A Systematic Review. *Clin Perinatol*. 2017 Mar;44(1):69-83. doi: 10.1016/j.clp.2016.11.004. Epub 2016 Dec 23. PMID: 28159210.
- Lee J, Kim HS, Jung YH, Choi KY, Shin SH, Kim EK, et al. Oropharyngeal colostrum administration in extremely premature infants: an RCT. *Pediatrics*. 2015;135:e357–66. doi: 10.1542/peds.2014-2004.
- Leenders E., de Waard M., van Goudoever J.B. Low- versus high-dose and early versus late parenteral amino-acid administration in very-low-birth-weight infants: A systematic review and meta-analysis. *Neonatology*. 2018;113:187–205. doi: 10.1159/000481192.
- Lemons JA, Moye L, Hall D, Simmons M. Differences in the composition of preterm and term human milk during early lactation. *Pediatr Res*. 1982 Feb;16(2):113-7. doi: 10.1203/00006450-198202000-00007. PMID: 7058078.
- Leppanen M., Lapinleimu H., Lind A., Matomaki J., Lehtonen L., Haataja L., Rautava P., Pipari Study Group Antenatal and postnatal growth and 5-year cognitive outcome in very preterm infants. *Pediatrics*. 2014;133:63–70. doi: 10.1542/peds.2013-1187.
- Lönnerdal B, Forsum E, Gebre-Medhin M, Hambraeus L. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. II. Lactose, nitrogen, and protein contents. *Am J Clin Nutr* 1976;29:1134–41. [PubMed] [Google Scholar]
- Lönnerdal B. Bioactive proteins in human milk-potential benefits for preterm infants. *Clin Perinatol*. (2017) 44:179–91. doi: 10.1016/j.clp.2016.11.013 22.
- Lubetzky R, Sever O, Mimouni FB, et al. Human Milk Macronutrients Content: Effect of Advanced Maternal Age. *Breastfeed Med*. 2015 Nov;10(9):433-6. doi: 10.1089/bfm.2015.0072. PubMed PMID: 26171573.
- Lucas A, Morley R, Cole TJ, et al. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 1992; 339:261-264.
- Maas YG, Gerritsen J, Hart AA, Hadders-Algra M, Ruijter JM, Tamminga P, Mirmiran M, Spekrijse H. Development of macronutrient composition of very preterm human milk. *Br J Nutr*. 1998 Jul;80(1):35-40. doi: 10.1017/s0007114598001743. PMID: 9797641.
- Maffei D, Schanler RJ. Human milk is the feeding strategy to prevent necrotizing colitis. *Semin Perinatol*. (2017) 41:36–40. doi: 10.1053/j.semperi.2016.09.016
- Maly J, Burianova I, Vitkova V, Ticha E, Navratilova M, Cermakova E, et al. Preterm human milk macronutrient concentration is independent of gestational age at birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019;104(1):F50-F6.

Mangel L, Mimouni FB, Feinstein-Goren N, et al. The effect of maternal habitus on macronutrient content of human milk colostrum. *J Perinatol*. 2017 Jul;37(7):818-821. doi: 10.1038/jp.2017.51. PubMed PMID: 28406487.

Meinzen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, Morrow AL, Stoll B, Donovan EF. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol*. (2009) 29:57–62. doi: 10.1038

Mennella JA, Yourshaw LM, Morgan LK. Breastfeeding and smoking: short-term effects on infant feeding and sleep. *Pediatrics*. 2007 Sep;120(3):497-502. doi: 10.1542/peds.2007-0488. PMID: 17766521; PMCID: PMC2277470.

Mimouni FB, Lubetzky R, Yochpaz S, Mandel D. Preterm Human Milk Macronutrient and Energy Composition: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Perinatol*. 2017 Mar;44(1):165-172. doi: 10.1016/j.clp.2016.11.010. PMID: 28159203.

Moran-Lev H, Mimouni FB, Ovental A, Mangel L, Mandel D, Lubetzky R. Circadian Macronutrients Variations over the First 7 Weeks of Human Milk Feeding of Preterm Infants. *Breastfeed Med*. 2015;10(7):366-70

Morgan J et al. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent NEC in very low birth weight infants. *Cochrane Neonatal Review* 2015

Morlacchi L, Mallardi D, Gianni ML, et al. Is targeted fortification of human breast milk an optimal nutrition strategy for preterm infants? an interventional study. *J Transl Med* 2016;14:195.

Moro GE, Arslanoglu S, Bertino E, Corvaglia L, Montirosso R, Picaud JC, et al. American academy of pediatrics; European society for pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition. XII. Human milk in feeding premature infants: consensus statement. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. (2015) 61(Suppl.1): S16–9. doi: 10.1097/01.mpg.0000471460.08792.4d

Napierala M, Mazela J, Merritt TA, Florek E. Tobacco smoking and breastfeeding: effect on the lactation process, breast milk composition and infant development. A critical review. *Environ Res*. 2016;151:321-338.

Napierala M, Mazela J, Merritt TA, Florek E. Tobacco smoking and breastfeeding: Effect on the lactation process, breast milk composition and infant development. A critical review. *Environ Res*. 2016 Nov; 151:321-338. doi: 10.1016/j.envres.2016.08.002. Epub 2016 Aug 12. PMID: 27522570.

Narang AP, Bains HS, Kansal S, Singh D. Serial composition of human milk in preterm and term mothers. *Indian J Clin Biochem*. 2006;21(1):89-94. doi:10.1007/BF02913072

Nasuf AWA, Ojha S, Dorling J. Oropharyngeal colostrum in preventing mortality and morbidity in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018 Sep 7;9(9):CD011921. doi: 10.1002/14651858.CD011921.pub2. PMID: 30191961; PMCID: PMC6513592.

Nishijo M, Nakagawa H, Honda R, Tanebe K, Saito S, Teranishi H, Tawara K. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy outcome and breast milk. *Occup Environ Med.* 2002 Jun;59(6):394-6; discussion 397. doi: 10.1136/oem.59.6.394. PMID: 12040115; PMCID: PMC1740300.

Nordhagen LS, Kreyberg I, Eline S, Bains K, et al; On behalf of the PreventADALL study group. Maternal use of nicotine products and breastfeeding 3 months postpartum. *Acta Paediatr.* 2020; 00:1–10.

Nutrition Reviews, Biochemical Differences between Preterm and Term Milk, Volume 41, Issue 3, March 1983, Pages 79–80, <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1983.tb07706.x>

Oddie SJ, Young L, McGuire W. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;8(8):CD001241.

Olsen IE, Groveman SA, Lawson ML, et al. New intrauterine growth curves based on United States data. *Pediatrics* 2010; 125:e 214.

Ortega RM, López-Sobaler AM, Quintas ME, Martínez RM, Andrés P. The influence of smoking on vitamin C status during the third trimester of pregnancy and on vitamin C levels in maternal milk. *J Am Coll Nutr.* 1998 Aug;17(4):379-84. doi: 10.1080/07315724.1998.10718779.

Parat S, Groh-Wargo S, Merlino S, Wijers C, Super DM. Validation of mid-infrared spectroscopy for macronutrient analysis of human milk. *J Perinatol.* 2017 Jul;37(7):822-826. doi: 10.1038/jp.2017.52. Epub 2017 Apr 20. PMID: 28425978.

Paul VK, Singh M, Srivastava LM, Arora NK, Deorari AK. Macronutrient and energy content of breast milk of mothers delivering prematurely. *Indian J Pediatr.* 1997;64(3):379-382. doi:10.1007/BF02845209

Peila C, Spada E, Giuliani F, Maiocco G, Raia M, Cresi F, Bertino E, Coscia A. Extrauterine Growth Restriction: Definitions and Predictability of Outcomes in a Cohort of Very Low Birth Weight Infants or Preterm Neonates. *Nutrients.* 2020 Apr 26;12(5):1224. doi: 10.3390/nu12051224.PMID: 3235753

Perrin MT, Belfort MB, Hagadorn JI, McGrath JM, Taylor SN, Tosi LM, Brownell EA. The Nutritional Composition and Energy Content of Donor Human Milk: A Systematic Review. *Adv Nutr.* 2020 Jul 1;11(4):960-970. doi: 10.1093/advances/nmaa014. PMID: 3211974

Perrin MT, Fogleman AD, Newburg DS, Allen JC. A longitudinal study of human milk composition in the second year postpartum: implications for human milk banking. *Matern Child Nutr* 2017;13(1). doi:10.1111/mcn.12239.

Perrin, M. T., Festival, J., Starks, S., Mondeaux, L., Brownell, E. A., & Vickers, A. (2019). Accuracy and Reliability of Infrared Analyzers for Measuring Human Milk Macronutrients

in a Milk Bank Setting. *Current developments in nutrition*, 3(11), nzz116. <https://doi.org/10.1093/cdn/nzz116>

Picciano MF, McGuire MK. Use of dietary supplements by pregnant and lactating women in North America. *Am J Clin Nutr*. 2009 Feb;89(2):663S-7S. doi: 10.3945/ajcn.2008.26811B. Epub 2008 Dec 10. PMID: 19073789; PMCID: PMC2647760.

Pillai A, Albersheim SG, Berris K, Albert AY et al. Corrected fortification approach improves the protein and energy content of preterm human milk compared with standard fixed-dose fortification. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2020; fetalneonatal-2019-317503. doi:10.1136/archdischild-2019-317503

Powe C.E., Knott C.D., Conklin-Brittain N. Infant sex predicts breast milk energy content. *Am. J. Hum. Biol*. 2010; 22:50–54. doi: 10.1002/ajhb.20941.

Prentice A, Jarjou LM, Drury PJ, Dewit O, Crawford MA. Breast-milk fatty acids of rural Gambian mothers: effects of diet and maternal parity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989;8(4):486–90.

Prentice A. Constituents of human milk. *Food Nutr Bull* 1996;17(4):305–12.

Pulkrabova J, Stupak M, Svarcova A, Rossner P, Rossnerova A, Ambroz A, Sram R, Hajslova J. Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk. *Sci Total Environ*. 2016 Aug 15;562:640-647. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.04.013. Epub 2016 Apr 22. PMID: 27107652.

Quigley M, Embleton ND, McGuire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Jul 19;7(7):CD002971. doi: 10.1002/14651858.CD002971.pub5. PMID: 31322731; PMCID: PMC6640412.

Radmacher PG, Adamkin DH. Fortification of human milk for preterm infants. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017 Feb;22(1):30-35. doi: 10.1016/j.siny.2016.08.004. Epub 2016 Sep 1. PMID: 27593561.

Ramel SE, Gray HL, Christiansen E, Boys C, Georgieff MK, Demerath EW. Greater Early Gains in Fat-Free Mass, but Not Fat Mass, Are Associated with Improved Neurodevelopment at 1 Year Corrected Age for Prematurity in Very Low Birth Weight Preterm Infants. *J Pediatr*. 2016 Jun;173:108-15. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.03.003.

Rana R, McGrath M, Gupta P, Thakur E, Kerac M. Feeding Interventions for Infants with Growth Failure in the First Six Months of Life: A Systematic Review. *Nutrients*. 2020 Jul 9;12(7):2044. doi: 10.3390/nu12072044. PMID: 32660020; PMCID: PMC7400880.

Rochow N, Fusch G, Choi A, et al. Target fortification of breast milk with fat, protein, and carbohydrates for preterm infants. *J Pediatr* 2013; 163:1001-1007.

Rochow N, Fusch G, Zapanta B, et al. Target fortification of breast milk: how often should milk analysis be done? *Nutrients* 2015; 7:2297-2310.

Rodriguez NA, Meier PP, Groer MW, Zeller JM, Engstrom JL, Fogg L. A pilot study to determine the safety and feasibility of oropharyngeal administration of own mother's colostrum to extremely low-birth-weight infants. *Adv Neonatal Care*. 2010;10:206–12. doi: 10.1097/ANC.0b013e3181e94133.

Rozé JC, Darmaun D, Boquien CY, et al. The apparent breastfeeding paradox in very preterm infants: relationship between breast feeding, early weight gain and neurodevelopment based on results from two cohorts, EPIPAGE and LIFT. *BMJ Open*. 2012 Apr 5;2(2):e000834. doi: 10.1136/bmjopen-2012-000834. PMID: 22492388; PMCID: PMC3323805.

Ruel MT, Dewey KG, Martinez C, Flores R, Brown KH. Validation of single daytime samples of human milk to estimate the 24-h concentration of lipids in urban Guatemalan mothers. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:439–44.

Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy content of human milk fractions during the six months of lactation. *Acta Paediatr* 2005; 94:1176-1181.

Sammallahti S., Pyhala R., Lahti M., Lahti J., Pesonen A.K., Heinonen K., Hovi P., Eriksson J.G., Strang-Karlsson S., Andersson S., et al. Infant growth after preterm birth and neurocognitive abilities in young adulthood. *J. Pediatr*. 2014;165:1109–1115.e3. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.08.028.

Schanler RJ, Lau C, Hurst NM, Smith EO. Randomized trial of donor human milk versus preterm formula as substitutes for mothers' own milk in the feeding of extremely premature infants. *Pediatrics*. 2005 116:400e6. doi: 10.1542/peds.2004-1974

Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C, et al. Feeding strategies for premature infants: randomized trial of gastrointestinal priming and tube-feeding method. *Pediatrics* 1999; 103:434.

Senterre T., Rigo J. Reduction in postnatal cumulative nutritional deficit and improvement of growth in extremely preterm infants. *Acta Paediatr*. 2012;101:e64–e70. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02443.x

Signore C, Spong CY. Vaginal birth after cesarean: new insights manuscripts from an NIH Consensus Development Conference, March 8-10, 2010. *Semin Perinatol*. 2010 Oct;34(5):309-10. doi: 10.1053/j.semperi.2010.05.002. PubMed PMID: 20869544; PubMed Central PMCID: PMCPMC2953727.

Silvestre D, Fraga M, Gormaz M, et al. Comparison of mid-infrared transmission spectroscopy with biochemical methods for the determination of macronutrients in human milk. *Matern Child Nutr* 2014; 10:373-382.

Smilowitz JT, Gho DS, Mirmiran M, German JB, Underwood MA. Rapid measurement of human milk macronutrients in the neonatal intensive care unit: accuracy and precision of fourier transform mid-infrared spectroscopy. *J Hum Lact* 2014;30(2):180–9.

Sohn K, Kalanetra KM, Underwood MA. Buccal administration of human colostrum: impact on the oral microbiota of premature infants. *J Perinatol*. 2016;36:106–11. doi: 10.1038/jp.2015.157.

Spiegler J, Preuß M, Gebauer C, Bendiks M, Herting E, Göpel W; German Neonatal Network (GNN); German Neonatal Network GNN. Does Breastmilk Influence the Development of Bronchopulmonary Dysplasia? *J Pediatr*. 2016 Feb;169:76-80.e4. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.10.080. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26621048.

Stephens B.E., Walden R.V., Gargus R.A., Tucker R., McKinley L., Mance M., Nye J., Vohr B.R. First-week protein and energy intakes are associated with 18-month developmental outcomes in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009;123:1337–1343. doi: 10.1542/peds.2008-0211. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

Stoltz Sjöstrom E., Ohlund I., Ahlsson F., Engstrom E., Fellman V., Hellstrom A., Kallen K., Norman M., Olhager E., Serenius F., et al. Nutrient intakes independently affect growth in extremely preterm infants: Results from a population-based study. *Acta Paediatr*. 2013;102:1067–1074. doi: 10.1111/apa.12359.

Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawoger R, Kiechl-Kohlendorfer U et al. An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *J Pediatr*. (2010) 156:562e7. e561. doi: 10.1016/j.jpeds.2009.10.040

Team RC, A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing updated 2018. Available from: <https://www.R-project.org>.

Trend S, Strunk T, Lloyd ML, Kok CH, Metcalfe J, Geddes DT, et al. Levels of innate immune factors in preterm and term mothers' breast milk during the 1st month postpartum. *Br J Nutr*. 2016;115:1178–93. doi: 10.1017/S0007114516000234.

Underwood MA. Human milk for premature infant. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60: 189-207.

Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, et al. Lancet breastfeeding series group. breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet*. (2016) 387:475–90. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01024-7

Vohr BR, Poindexter B, Wrage L, et al. Persistent beneficial effects of breast milk ingested in the neonatal intensive care unit on outcomes of extremely low birth weight infants at 30 months of age. *Pediatrics* 2007; 27: 120:e953-959.

Watkins WJ, Farewell D, Banerjee S, Nasef H, James A, Chakraborty M. Modelling predictive gender- and gestation-specific weight reference centiles for preterm infants using

a population-based cohort study. *Sci Rep.* 2020 Mar 4;10(1):4032. doi: 10.1038/s41598-020-60895-6. PMID: 32132590

Weinstein MR, Oh W. Oxygen consumption in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1981; 99:958.

Wojcik KY, Retchman DJ, Lee ML, et al. Macronutrient analysis of a nationwide sample of donor breast milk. *J Am Diet Assoc* 2009; 109:137-140.

Yochpaz S, Mimouni FB, Mandel D, Lubetzky R, Marom R. Effect of Freezing and Thawing on Human Milk Macronutrients and Energy Composition: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Breastfeed Med.* 2020 Sep;15(9):559-562. doi: 10.1089/bfm.2020.0193. Epub 2020 Jul 17. PMID: 32700962.

Young BE, Patinkin ZW, Pyle L, de la Houssaye B, Davidson BS, Geraghty S, et al. Markers of Oxidative Stress in Human Milk do not Differ by Maternal BMI But are Related to Infant Growth Trajectories. *Matern Child Health J.* 2017;21(6):1367-76

Yunis KA, Oh W. Effects of intravenous glucose loading on oxygen consumption, carbon dioxide production, and resting energy expenditure in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1989; 115:127.

Zachariassen G, Fenger-Gron J, Hviid MV, Halken S. The content of macronutrients in milk from mothers of very preterm infants is highly variable. *Dan Med J* 2013; 60(6): A4631.

Zaidan H, Terehi MA. Different factors effects in lactating mother's milk compositions. *Adv Life Sci Technol.* 2013;13:2224–7181.

Zhu M, Yang Z, Ren Y, Duan Y, Gao H, Liu B, Ye W, Wang J, Yin S. Comparison of macronutrient contents in human milk measured using mid-infrared human milk analyser in a field study vs. chemical reference methods. *Matern Child Nutr* 2017;13(1). doi:10.1111/mcn.12248

Ziegler EE, Biga RL, Fomon SJ. Nutritional requirements of the premature infant. In: *Textbook of Pediatric Nutrition*, Suskind RM (Ed), Raven Press, New York 1981. p.29

Zivkovic AM, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk glycobiome and its impact on the infant gastrointestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:4653–8.

11. Seznam publikací

11.1. Původní práce a přehledné články v časopisech s definovaným impakt faktorem

Duration of Surgery, Ventilation, and Length of Hospital Stay Do Not Affect Breastfeeding in Newborns After Early Cleft Lip Repair.

Burianova I, Cerny M, Borsky J, Zilinska K, Dornakova J, Martin A, Janota J. Cleft Palate Craniofac J. 2021 Feb;58(2):146-152. doi: 10.1177/1055665620949114. Epub 2020 Aug 17. PMID: 32799648. (IF 1,34)

Maternal body mass index, parity and smoking are associated with human milk macronutrient content after preterm delivery.

Burianova I, Bronsky J, Pavlikova M, Janota J, Maly J. Early Hum Dev. 2019 Oct; 137:104832. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2019.104832. Epub 2019 Aug 15. (IF 1,96)

Preterm human milk macronutrient concentration is independent of gestational age at birth.

Maly J, Burianova I, Vitkova V, Ticha E, Navratilova M, Cermakova E; PREMATURE MILK study group. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2018 Jan 20. pii: fetalneonatal-2016-312572. doi: 10.1136/archdischild-2016-312572. (IF 5,4)

Breastfeeding After Early Repair of Cleft Lip in Newborns With Cleft Lip or Cleft Lip and Palate in a Baby-Friendly Designated Hospital.

Burianova I, Kulihova K, Vitkova V, Janota J. J Hum Lact. 2017 Aug;33(3):504-508. doi: 10.1177/0890334417706062. Epub 2017 Jun 11. (IF 2,3)

Group B streptococcus colonization of breast milk of group B streptococcus positive mothers.

Burianová I, Paulová M, Cermák P, Janota J. J Hum Lact. 2013 Nov;29(4):586-90. doi: 10.1177/0890334413479448. Epub 2013 Mar 22. (IF 2,3)

Successful treatment of profound hypothermia of the newborn.

Konopova P, Janota J, Termerova J, Burianova I, Paulova M, Zach J. Acta Paediatr. 2009 Jan;98(1):190-2. doi: 10.1111/j.1651-2227.2008.01052.x. Epub 2008 Nov 6 (IF 2,11)

11.2. Ostatní články, přednášky, spoluautorství a postery

11.2.1. Články publikované v neimpaktovaných časopisech

Současný pohled na fortifikaci mateřského mléka po propuštění z porodnice.

I. Burianová, Neonatologické listy 26/2020, str.16-17

Jaké jsou možnosti podpory kojení po časně plastice rozštěpu rtu v porodnici se statutem Baby-Friendly Hospital?

I. Burianová; V. Halašková; J. Borský; J. Janota. Czecho-Slovak Pediatrics / Čes-slov Pediat 2019; 74 (6): 349-353.

Změny obsahu bílkoviny v mateřském mléce po předčasném porodu

Burianová, I.; Malý, J.; Navrátilová, M.; Tichá, E.; Vítková, Bronský, et al. J. Czecho-Slovak Pediatrics / Cesko-Slovenská Pediatrie 2017, Vol. 72 Issue 8, 472-477.

Změny obsahu makronutrientů v mateřském mléce po předčasném porodu

I. Burianová; J. Malý; M. Navratilová; Bronský et al. Neonatologické Listy, 24/2018, str. 3-7.

Doporučení Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS pro výživu kojenců a batolat

MUDr. Simona Bělohávková, Doc.MUDr. Jiří Bronský, Ph.D., MUDr. Iva Burianová et al. Česko-slovenská Pediatrie. Číslo Suppl 1/2014

Výživa nedonošených novorozenců po propuštění

Burianová I. Medical Tribune 28/2011, strana C6

Pokroky ve výživě novorozenců

Burianová I. Časopis lékařů českých 2010: 149(8)

Péče o výživu nedonošeného novorozence po propuštění z nemocnice

I. Burianová, J. Janota Prakt. Lék. 2009; 89(1): 20-21

Individualizovaná proteinová fortifikace mateřského mléka u novorozenců s nízkou porodní hmotností: klíč ke snížení morbidity?

I.Burianová, J. Janota. Czecho-Slovak Pediatrics / Čes-slov Pediat 2007; 62 (7-8): 447-450.

Dlouhodobé sledování nedonošených dětí

Peychl I., Liška K., Burianová I. Neonatologické Listy, číslo 2, 4/1998 str. 96

Pozdní morbidita nedonošených: Audit 4 ročníků dětí narozených v perinatologickém centru ve 3 letech

Peychl I., Krejčová V., I. Burianová, M. Prokop. Neonatologické Listy číslo 2, 5/1999 str. 61

Kongenitální erytroidní porfyrie

Dokoupilová M, Burianová I., Plavka R, Kopecký P. Neonatologické listy ročník 7/ 2001 číslo 3, str. 113

Hyperkalémie nedonošených novorozenců

I. Burianová, I. Peychl. Neonatologické Listy. 1997, Roč. 3, č. 3, s. 191-194. ISSN: 1211-1600.

Frekvence stavu selhání konvenční ventilace v perinatologickém centru

Ivan Peychl, Iva Burianová et al. Neonatologické Listy. 1996, Roč. 2, č. 1, s. 20-27. ISSN: 1211-1600.

Hodnoty indexu kalcium/kreatinin v moči u nedonošených novorozenců

Iva Burianová, J. Feber, J. Janda. Československá Pediatrie. 1995, Roč. 50, č. 5, s. 270-272. ISSN. 0069-2328; 1805-4501

Kongenitální plicní cysta

Burianová I, Šnajdauf J. Neonatologický zpravodaj 1995, č. 2, str.19. ISSN: 1211-1600

10.2.2. Kapitoly v učebnicích

Neonatologie II. vydání

Straňák Z., Janota J., Mladá Fronta, 2016, ISBN 978-80-204-3861-4

Neonatologie I. vydání

Janota J., Straňák Z., Mladá Fronta, 2015, ISBN 978-80-204-3861-4

Enterální výživa nezralých novorozenců-podpora kojení

Frühauf P., Burianová, I. a kol., 1.vyd. Gylden, 2014. 40 s. ISBN 978-80-87290-05-7.

Farmakoterapie při kojení

Burianová I, Paulová M, Jirsová E. Breviř 2011, Medical Tribune, Pediatrie/ Očkovací látky, 2. Vydání ISBN 978-80-87135-18-1

Mimořádné situace ve výživě novorozenců a kojenců.

Burianová I., Frühauf P. a kol., 1.vyd. Gylden, 2010. 40 s. ISBN 978-80-87290-01-9.

Nové pohledy na výživu novorozenců a kojenců

Burianová I., Čierna I., a kol., 1. vyd. Solen Print, 2008, ISBN 978-80-903776-8-4

Lipidy ve výživě dětí

Bayer M., Burianová I. a kol. 1.vyd. Gylden, 2005. 40 s. ISBN 80-903507-2-0.

11.2.3. Přednášky, postery

Co nového přináší analýza mateřského mléka? VI. Pediatrický Master Kurz – 27.-28.3 2020

Současný pohled na nutriční komponenty mateřského mléka, Kongres Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy, 3. – 5. 10. 2019, Doksy

Problematika výživy novorozenců, Vzdělávací institut Krajská zdravotní, Ústí nad labem, 17. 4. 2019

Human milk macronutrients content during the first 2 month of lactation after preterm delivery. Breastfeeding and Lactation. Symposium, London, Velká Británie, 4-5/4/ 2019 (komentovaný poster)

SUPC a jeho rizikové faktory. Kurz v neonatologii IPVZ, Praha, 21. 3. 2019

Human milk macronutrients content after preterm delivery. World Congress on Fetal and Maternal Medicine, Amsterdam, Nizozemí, 5-8/12/2018 (komentovaný poster)

Syndrom náhlého úmrtí v novorozeneckém věku, Neonatologické dny, 10.- 12. 10. 2018

Oligosacharidy mateřského mléka, Neonatologické dny, České Budějovice, 8. - 10. 11. 2017

Výživa nedonošených novorozenců po propuštění, III. Pediatrický master kurz, Brno, 31.3 – 1. 4. 2017

Enterální výživa nedonošených novorozenců a její „up-to date“ přístup, Kurz v neonatologii IPVZ, 30. 3. 2017

Novinky ve výživě novorozenců, Odborný seminář OSPDL ČLS JEP, 1. 12. 2016, Praha

Rozdíly ve složení mateřského mléka po manipulaci, Neonatologické dny, Valeč, 5.-7. 10. 2016

Výživa dětí s nízkou porodní hmotností, Sdružení praktických lékařů pro děti a dorost, Praha, 22. 9. 2016

Výživa dětí s nízkou porodní hmotností, Sdružení praktických lékařů pro děti a dorost, Plzeň, 4. 5. 2016

Výživa dětí s nízkou porodní hmotností, Sdružení praktických lékařů pro děti a dorost, České Budějovice, 5. 3. 2016

Je mateřské mléko předčasně narozených dětí stejné jako u donošených? Odborný seminář OSPDL ČLS JEP, Praha, 21. 10. 2015

Analýza mateřského mléka, Neonatologické dny, 7.- 9. 10. 2015

Resuscitace novorozence, Specializační kurz – Urgentní medicína IPVZ, Praha, 2. 3. 2015

Osteopatie nedonošených, Kurz v neonatologii IPVZ, Praha, 27. 3. 2014

Strategie výživy středně a lehce nedonošených novorozenců, Neonatologické dny, Ústí nad Labem, 6.- 8. 11. 2013

Růstové křivky u nedonošených novorozenců, Neonatologické dny, Ostrava, 14. 11. 2012

Pozdní podvaz pupečníku, IPVZ Praha, Den fyziologického novorozence, 26. 3. 2012

Postdischarge výživa nedonošených dětí IV. Symposium pokroky ve výživě novorozenců – Praha 14. 4. 2011

Doporučení ESPGHAN 2010 – enterální výživa nedonošených dětí, 25. 3. 2011 - IPVZ Praha, Den fyziologického novorozence

Probiotika v prevenci alergií, je možné zcela zamezit rozvoji onemocnění? V. symposium společnosti pro probiotika a prebiotika, UVN Praha, 20. 4. 2010

Probiotika a prevence NEC, FNM, Pediatrická klinika, klinický seminář 15. 5. 2010

Neprospívání kojeného dítěte, 24. 4. 2009, Krajský seminář perinatolog. centra České Budějovice

Úloha slizniční imunity v novorozeneckém věku, IV. symposium společnosti pro probiotika a prebiotika, UVN Praha, 20. 4. 2009

Postdischarge výživa nedonošených dětí, 25. Neonatologické dny, Luhačovice, 13. 11. 2009

Těžká hypotermie u novorozence, Konopová P, Burianová I, 24. Neonatologické dny, Olomouc, 12. 11. 2008

Nekrotizující enterokolitida a její možnosti prevence, 24. Neonatologické dny, 12. 11. 2008 Olomouc

Cyklus přednášek Mateřské mléko – první setkání s probiotiky, 17. 9. 2008 Liberec, 1. 10. 2008, Praha, 8. 10. 2008, Olomouc, 22. 10. 2008, České Budějovice, 5. 11. 2008, Brno, 19.11. 2008, Ústí n. Labem, 26.11. 2008, Ostrava, 3.12. 2008 Hradec králové

Slizniční imunita a časná kolonizace u novorozenců. Krajský seminář perinatolog. centra Brno, 30. 9. 2008

Probiotika v prevenci alergií dětského věku, III. sympozium společnosti pro probiotika a prebiotika, UVN Praha, 23. 4. 2008

Nekrotizující enterokolitida a její prevence probiotickou suplementací. Sympozium pokroky ve výživě novorozenců – Praha 18. 4. 2008

Nekrotizující enterokolitida nedonošených novorozenců, IPVZ Kurz v neonatologii, Praha, 24. 3. 2008

Růstové retardace a jeho monitorování u VLBW. Hradec králové, 23. Neonatologické dny 4. 11. 2007

Cyklus přednášek „Úskalí péče o novorozence po propuštění z porodnice“, 18. 1. 2007, Praha, 21. 2. 2007, Hradec Králové, 24. 4. 2007, Ústí nad Labem, 9. 5. 2007, Liberec, 23. 5. 2007, České Budějovice

Osteopenie nedonošených novorozenců. Dny fyziologického novorozence, IPVZ Praha. 21. 3. 2007

LCPUFA ve výživě nedonošených novorozenců. Perinatologický kongres. Poděbrady 27. 4. 2006

Výživa nedonošených v pediatrické ambulanci. Seminář pro pediatry Středočeského kraje, porodnice Kladno. 15. 10. 2005 nemocnice Kladno

Výživa nedonošených novorozenců po propuštění, ABM doporučení. 17. Dětské gastroenterologické dny. 4. - 5. 11. 2005, Hradec králové.

Mateřské mléko a umělá výživa nedonošených novorozenců. Krajský seminář dětských sester a porodních asistentek. 12. 5. 2005 – Kladno

Postdischarge mléka ve výživě nedonošených novorozenců. Dny fyziologického novorozence. 12. 3. 2005 - IPVZ Praha

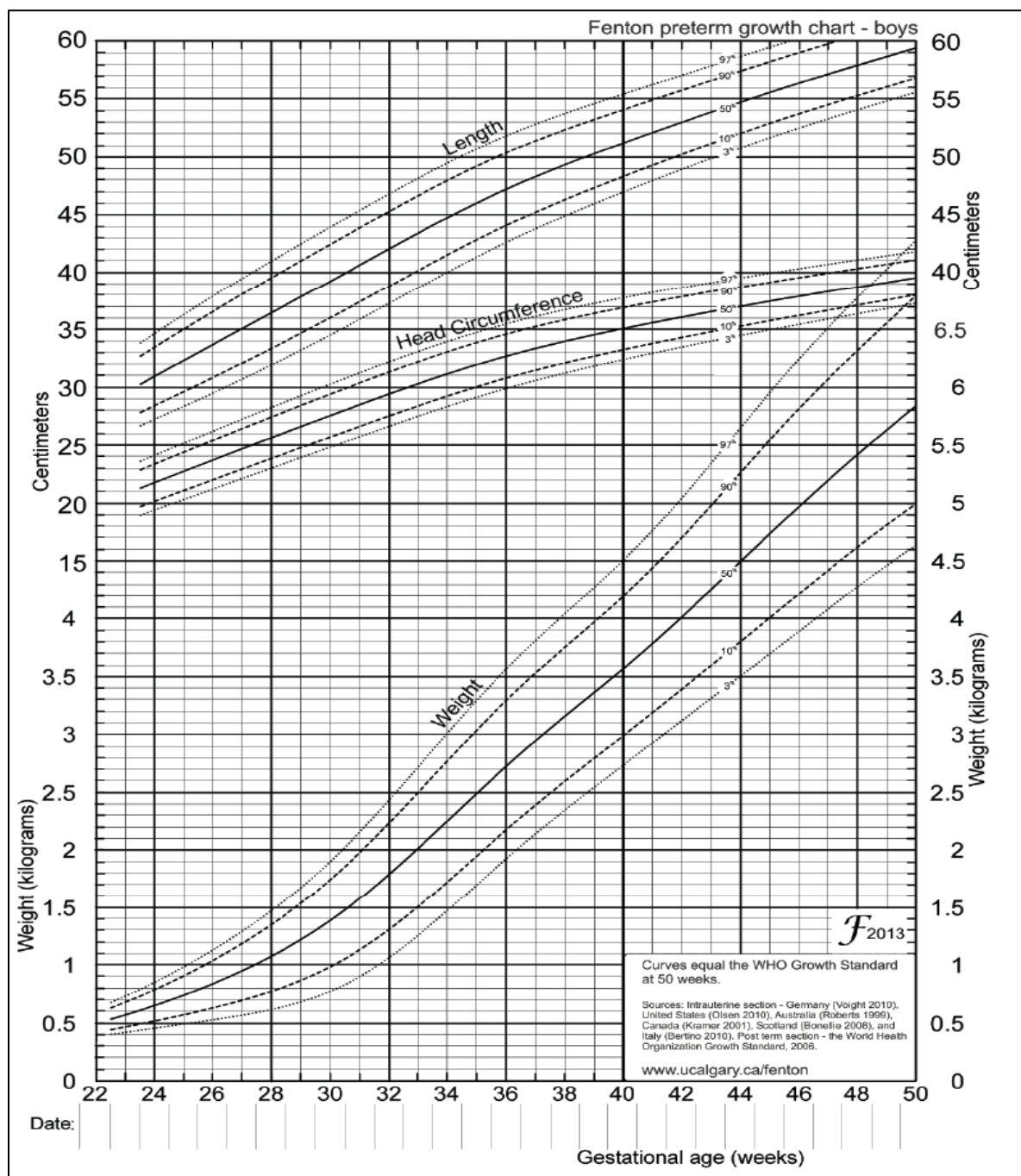
Mateřské mléko a jeho význam pro pozdní formu GBS infekce novorozenců Burianová I, Paulová M Neonatologické dny, Hradec Králové, 2. 10. 2004

Burianová I, Čurda L, Paulová M: Analýza mateřského mléka na přístroji Milkscreen, Gastroenterologické dny, Karlovy Vary, 20. 9. 2003

12. Přílohy:

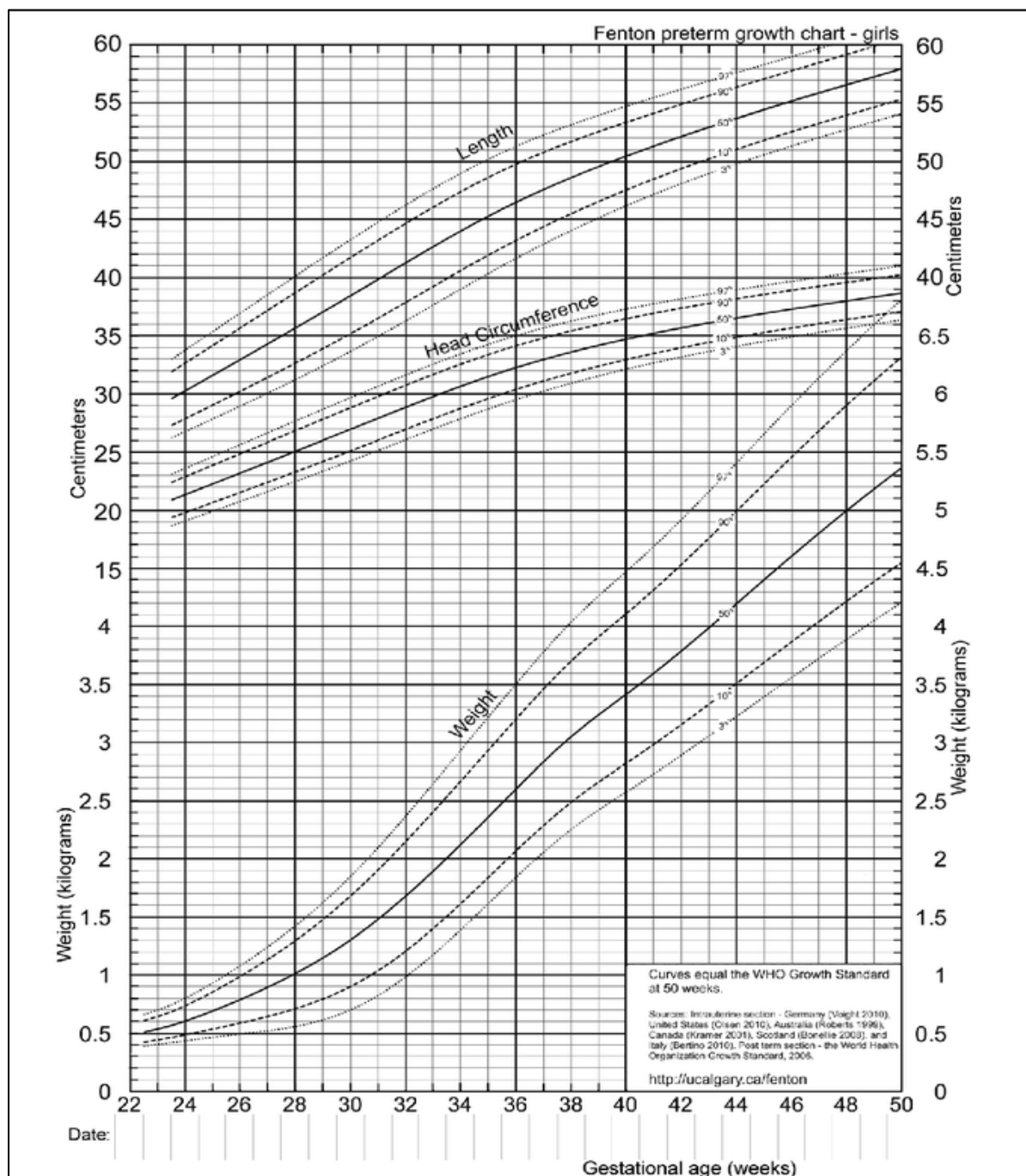
11.1. Růstové křivky pro nedonošené novorozence

Růstové křivky pro nedonošené novorozence - chlapci



zdroj: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23601190/>

Růstové křivky pro nedonošené novorozence - děvčata



zdroj: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23601190/>

11.2. Informovaný souhlas se studií

Souhlas účastníka ve studii

Název studie: Kvantifikace makrokomponent mateřského mléka před a po pasterizaci a následném mražení s mateřským mlékem použitím analyzátoru MIRIS

Studie je schválena Etickou komisí TN Praha

Osoba odpovědná za provádění klinické studie:

MUDr. Iva Burianová, Novorozenecké oddělení s JIP, Thomayerova nemocnice, Praha

Význam studie:

Mateřské mléko je považováno za ideální a do určité míry nenahraditelnou formu výživy pro zdravé děti i nemocné nebo nedonošené novorozence. Složení mateřského mléka se v průběhu několika týdnů po porodu významně mění, rovněž se liší složení mateřského mléka po předčasném porodu a po porodu v termínu. Protože dosud nevíme, jak velké ztráty jednotlivých živin vznikají po ošetření mléka pasterizací a následným zmrazením, dostáváme se do situace, že někteří novorozenci jsou krmeni mlékem, které může mít nedostatečný obsah základních živin a to může vést k situaci, že novorozenci špatně

Studie **Kvantifikace makrokomponent mateřského mléka před a po pasterizaci a manipulaci s mateřským mlékem použitím analyzátoru MIRIS**, ve které zvažujete svou účast, si klade za cíl zjistit složení čerstvého mateřského mléka u žen v ČR v různé době po porodu a porovnat toto složení se složením mléka po pasterizaci a následném mražení.

Pokud byste se rozhodla k účasti ve studii, pomohla byste přispět ke zkvalitnění péče o tyto těžce nemocné a nedonošené děti, za což Vám děkujeme.

Charakteristika studie:

Analýza spočívá ve vyšetření darovaného vzorku mateřského mléka (2ml) přístrojem MIRIS v průběhu hospitalizace Vašeho dítěte na našem oddělení (max. vyšetření 2 vzorků).

Vaše případná účast ve studii Vaše dítě nijak nezatíží, není spojena s odběrem krve či jakéhokoliv dalšího biologického materiálu ani Vám ani Vašemu dítěti. Svou účast ve studii můžete kdykoliv odvolat, a to bez udání důvodu.

Já
(jméno a příjmení)

Datum narození: