

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Studijní program: biomedicína

Studijní obor: preventivní medicína



MUDr. Jitka Kytarová

**Význam IGF-I a vybraných polymorfismů v *IGF1* genu pro postnatální
růst dětí SGA/IUGR a extrémně nezralých novorozenců**

**The impact of IGF1 and selected *IGF1* gene polymorphisms on postnatal
growth in children SGA/IUGR and extremely preterm newborns**

Doktorská disertační práce

školitel: Prof. MUDr. J. Zeman, DrSc

Praha, 2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci 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, 1. 2. 2016

MUDr Jitka KYTNAROVÁ

Podpis

Identifikační záznam

KYTNAROVÁ, Jitka. *Význam IGF1 a vybraných polymorfismů v IGF1 genu pro postnatální růst dětí SGA/IUGR a extrémně nezralých novorozenců. [The impact of IGF1 and selected IGF1 gene polymorphisms on postnatal growth in children SGA/IUGR and extremely preterm newborns]*. Praha, 2016. 71 stran, 6 příloh. Disertační práce (PhD.). Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, Klinika dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF UK.
Školitel: Prof. MUDr. Jiří Zeman, DrSc.

Poděkování

Jedním z nejdůležitějších úkolů současného zdravotnictví je prevence závažných chorob. Je fascinující, že řada z nich může mít částečně svůj původ již v ranné fázi nitroděložního vývoje a v časném postnatálním období. Chtěla bych především poděkovat mému školiteli a přednostovi Kliniky dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN prof. MUDr. Jiřímu Zemanovi, DrSc za odborné vedení ve vědecké i klinické práci. Současně bych ráda podělovala všem kolegům lékařům i zdravotním sestřám z Kliniky dětského a dorostového lékařství za pomoc při organizaci výzkumných studií.

Vědecká práce není možná bez týmové spolupráce. Chtěla bych poděkovat všem pracovníkům Laboratoře pro studium mitochondriálních poruch, zejména pak ing. Kateřině Veselé, Ph.D. za genetické analýzy. Dále bych ráda poděkovala prof. MUDr. Michalovi Krškovi, CSc za pomoc a cenné připomínky při zpracování biochemické části práce.

V neposlední řadě patří mé poděkování mé rodině, mým rodičům, kteří mě přivedli ke studiu medicíny, manželovi a dětem za jejich trpělivost, podporu a pomoc.

Disertační práce vznikla za podpory grantu Interní grantové agentury Ministerstva zdravotnictví ČR NR 9374-3 a RVO – VFN 64165/2012.

Seznam zkratek

AGA	hmotnost/délka přiměřená gestačnímu věku (appropriate for gestational age)
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index, kg/m ²)
cm	centimetr
CVD	kardiovaskulární choroby (cardiovascular disease)
DM 2. typu	diabetes mellitus 2. typu
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELBW	extremely low birth weight, novorozenec s extrémně nízkou porodní hmotností
GH	růstový hormon (growth hormone)
GLUT1	svalový glukózový přenašeč 1
HC	head circumference, obvod hlavy
IGFs	insulin – like growth factors (inzulinu podobné růstové faktory)
IGF-I	insulin – like growth factor I
IGF-II	insulin – like growth factor II
IGF-BPs	insulin – like growth factor binding proteins (vazebné bílkoviny pro IGFs)
IGF-BP-1	insulin – like growth factor binding protein-1
IGF-BP-2	insulin – like growth factor binding protein- 2
IGF- BP-3	insulin – like growth factor binding protein- 3
IUGR	intrauterinní růstová retardace (intrauterine growth retardation)
JIRP	jednotka intenzivní a resuscitační péče
kDa	kilodalton
MODY	maturity onset diabetes of the young
NENPH	novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností
OR	křížový poměr (odds ratio)

PI	ponderální index (kg/m^3)
SD	směrodatná odchylka (standard deviation)
SDS	skóre směrodatné odchylky (standard deviation score)
SGA	malý vzhledem ke gestačnímu věku (small for gestational age)
3'UTR	nekódující oblast
WHO	Světová zdravotnická organizace

Obsah

1. ÚVOD	9
1.1. Postnatální růst extrémně nezralých dětí	10
1.2. Novorozenci s nízkou porodní hmotností a s intrauterinní růstovou retardací (SGA/IUGR)	13
1.2.1. Teorie fetálního původu původu chorob v dospělosti	17
1.2.1.1. Nutriční teorie („thrifty phenotype“ hypothesis)	19
1.2.1.2. „Záchraná“ teorie („Fetal salvage“ hypothesis)	20
1.2.1.3. Fetální inzulinová teorie („Fetal insulin“ hypothesis)	21
1.2.1.4. Teorie „catch – up“ růstu	22
1.2.1.5. Hypotéza kmenové buňky („Stem cell“ hypothesis)	22
1.2.1.6. Teorie „strážného“ („gatekeeper“ hypothesis)	23
1.2.2. Hormonální vlivy v prenatálním období	23
1.2.3. Systém IGFs a IGF-BPs a jeho dopad na postnatální růst novorozenců SGA/IUGR a novorozenců extrémně nezralých	23
1.2.4. Epigenetické faktory	26
1.2.5. Genetické faktory	27
1.2.5.1. Funkční polymorfismy <i>IGF1</i> genu	27
2. CÍLE STUDIE	30
3. MATERIÁL A METODIKA	31
3.1. Soubor pacientů	31
3.1.1. Soubor extrémně nezralých novorozenců, u kterých byla sledována míra přežití a závažné zdravotní následky	31
3.1.2. Soubor extrémně nezralých dětí, u kterých byl studován vývoj antropometrických parametrů	31
3.1.3. Soubor dětí SGA/IUGR, extrémně nezralých novorozenců a dětí AGA, u kterých byly studovány polymorfismy <i>IGF1</i> genu ve vztahu k vývoji antropometrických parametrů	32
3.2. Metody genotypizace	33
3.3. Statistické zpracování	34
3.3.1. Statistické metody zpracování souboru extrémně nezralých novorozenců, u kterých byla sledována míra přežití a závažné zdravotní následky	34
3.3.2. Statistické metody zpracování antropometrických parametrů v souboru extrémně nezralých dětí	34
3.3.3. Statistické metody zpracování vztahu polymorfismů <i>IGF1</i> genu ve vztahu k vývoji antropometrických parametrů	34
3.4. Etická komise	35
4. VÝSLEDKY	36
4.1. Dlouhodobé přežití a výskyt závažných morbidit extrémně nezralých novorozenců	36

4.2. Vývoj antropometrických parametrů extrémně nezralých dětí	36
4.3. Polymorfismy IGF1 genu ve vztahu k postnatálnímu růstu dětí SGA/IUGR a u dětí extrémně nezralých	42
4.3.1. Repetitivní polymorfismus (CA) _n v promotoru IGF1 genu	42
4.3.2. Repetitivní polymorfismus (CT) _n (PCR1; IGF1.PCR1; UniSTS 155246)	47
4.3.3. Mikrosatelitní marker D12S318 - (CA) repetitivní polymorfismus v 3'UTR oblasti IGF1 genu	49
4.3.4. (CA) repetitivní polymorfismus v intronu 2 (alela 216) a (CA) repetitivní polymorfismus v 3'UTR nekodující oblasti (185 bp) IGF1 genu	51
5. DISKUZE	53
5.1. Dlouhodobé přežití a výskyt závažných morbidit extrémně nezralých novorozenců	53
5.2. Antropometrické parametry dětí extrémně nezralých	54
5.3. Polymorfismy IGF1 genu a jejich dopad na prenatální a postnatální růst	56
6. ZÁVĚRY A PRAKTICKÉ DOPADY STUDIE	59
7. SEZNAM PUBLIKACÍ	60
1. publikace, které jsou podkladem disertace	60
a) s impakt faktorem	60
b) bez impakt faktoru	60
2. publikace bez přímého vztahu k tématu disertace	61
a) s impakt faktorem	61
b) bez impakt faktoru	61
8. POUŽITÁ LITERATURA	63

1. ÚVOD

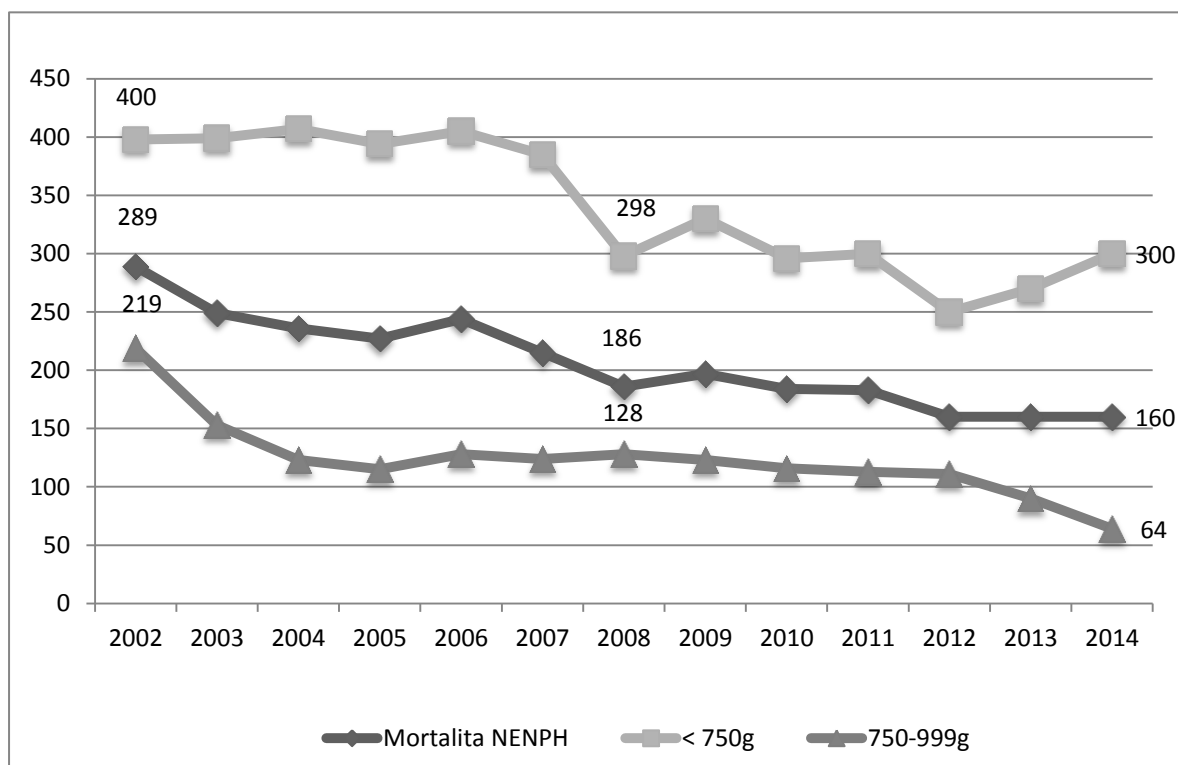
Celosvětově klesá míra úmrtnosti novorozenců nejen donošených, ale i dětí s velmi nízkou a extrémně nízkou porodní hmotností. V České republice poklesla míra úmrtnosti za posledních 25 let ze 7,8 promile v roce 1990 na pouhých 1,27 promile v roce 2014. Současně stoupá, zejména díky vyššímu průměrnému věku matek, metodám in vitro fertilizace a vícečetným těhotenstvím, počet dětí, které se narodí předčasně. Hranice „viability“, při které je zahajována intenzivní resuscitace se posouvá do nižších týdnů gestace. Míra úmrtnosti novorozenců s velmi nízkou a extrémně nízkou hmotností zaznamenala největší pokles ze všech hmotnostních kategorií (Plavka R, 2015). S klesající mírou úmrtnosti stoupá význam dlouhodobých komplikací a následků extrémní nezralosti. Kromě extrémně nezralých dětí jsou v bezprostředním poporodním období, ale i v budoucím životě ohrožené řadou komplikací i děti, které se narodily v termínu nebo mírně nezralé, s nízkou hmotností či délkou vzhledem ke gestačnímu stáří (SGA) nebo s intrauterinní růstovou retardací (IUGR). Proto je i u nich nezbytně nutné jejich další dlouhodobé sledování. Jednou z možných komplikací je postnatální růstové selhání, jehož výsledkem může být nízká výška v dospělosti. Nízká postava představuje pro své nositele nejen celoživotní společenský handicap, ale i řadu technických a zdravotních problémů. Výška, která je považována ještě za společensky přijatelnou, se díky sekulárnímu trendu za posledních 100 let významně změnila. Ve Velké Británii v době 1. světové války byla například nejnižší výška mužů, která umožňovala vstup do armády, 160 cm. Na nátlak tisíců mužů, kterým byla služba v armádě odepřena, byly vytvořeny zvláštní jednotky pro muže s výškou 152- 160 cm („Bantam Battalions“). V současné době lze za nízkou výšku z lékařského hlediska považovat výšku nižší než – 2 SDS (skóre směrodatné odchylky) pod průměrem (odpovídá 2.3 percentilu) pro dané pohlaví, věk a populaci. Z růstových grafů WHO vyplývá, že medián (50. percentil) je nyní u dvacelitých chlapců 176 cm a 3. percentilu odpovídá výška 165 cm. U dvacetiletých dívek je medián výšky 165 cm a za dolní hranici, tedy 3. percentil, je považována výška 153 cm (<http://www.cdc.gov/growthcharts/data/set2clinical>). Malý vzrůst může mít i negativní zdravotní důsledky. První zmínka o možném negativním vlivu nízké výšky v dospělosti na zdravotní stav pochází již z roku 1951. Gertler zjistil, že výška mužů, kteří byli hospitalizováni před 40. rokem věku pro infarkt myokardu, byla o 5,08 cm nižší (170,2 cm) než výška kontrolní skupiny (175,3 cm). Dosud bylo publikováno více než 1000 studií, které se zabývaly malým vzrůstem a možnými negativními zdravotními následky, jejich výsledky jsou však kontroverzní (Paajanen TA et al., 2010). U dětí, které se narodily extrémně nezralé nebo s intrauterinní růstovou retardací, zvyšuje zdravotní rizika řada vlivů prenatálních i

komplikací v časném postnatálním období.

1.1. Postnatální růst extrémně nezralých dětí

V posledních dvou desetiletích vlivem pokroku v prenatální péči a metodám asistované reprodukce významně narůstá počet dětí, které se narodily extrémně nezralé, tj. před dokončeným 28. gestačním týdnem. Současně se snižuje úmrtnost předčasně narozených dětí i hranice „životaschopnosti“ (graf 1.).

Graf 1. Vývoj novorozenecké úmrtnosti dětí s extrémně nízkou porodní hmotností (NENPH) v České republice



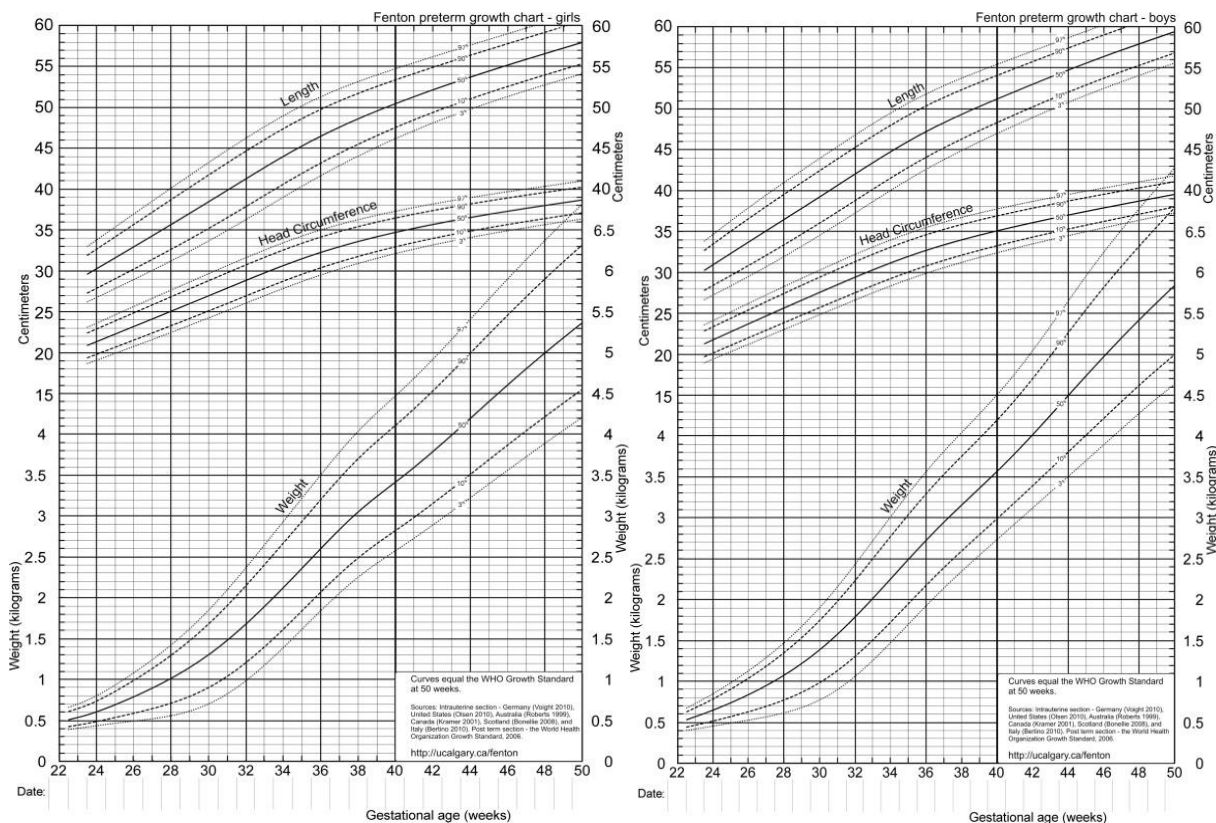
Zdroj: Plavka R, 2015, <http://www.neonatology.cz/vysledky-pece-v-cr>

Závažná nezralost přitom představuje pro dítě řadu rizikových faktorů nejen v bezprostředním novorozeneckém období, ale i v průběhu dětství a dospělosti. Názory na perinatální péči o děti narozené na „hraně životaschopnosti“ mezi 22. a 25. gestačním týdnem se v jednotlivých státech liší. Otevřenou otázkou zůstává i samotná definice „životaschopnosti“. Zatímco od

26. gestačního týdne je zpravidla doporučováno zahájení resuscitace, u dětí narozených před 26. týdnem je zahájení resuscitace fakultativní (Lui K et al., 2006, Singh J et al., 2007, Nuffield Council on Bioethics, 2008, Jefferies AL, 2012, Ambalavanan N et al., 2012, Ochiai M et al., 2014, Ancel PY et al., 2015). Longitudinální porovnávání dat z jednotlivých studií, které sledovaly úmrtnost a postnatální prognózu předčasně narozených dětí je přitom problematické. V řadě starších studií byl totiž soubor definován výlučně na základě porodní hmotnosti (nikoliv gestačního týdne). Do těchto souborů tedy byly zařazeny i děti, které se narodily ve vyšším gestačním týdnu, ale s velmi nízkou nebo extrémně nízkou porodní hmotností (Vohr BR et al., 2004). Úmrtnost a dlouhodobá prognóza dětí extrémně nezralých, tj. narozených před dokončeným 28. gestačním týdnem (tedy specificky závislá na délce gestace) nebyla v té době známa.

Díky narůstajícím lékařským znalostem a technickému pokroku současně narůstá počet extrémně nezralých dětí, které dlouhodobě přežívají. Tyto děti mohou být v pozdějším životě ve zvýšené míře ohroženy celou řadou komplikací a chorob. K nejzávažnějším těžkým a středně těžkým postižením patří především psychomotorická retardace (5-36%), dětská mozková obrna (9-18%), závažná porucha zraku (0,7-9%) a porucha sluchu (2-4%). K mírnějším neurologickým následkům patří poruchy kognitivních funkcí, poruchy učení a chování. Bez následků nebo s minimálním postižením zůstává 6-20% extrémně nezralých dětí (Milner KM et al., 2015, Jarjour IT, 2015). Extrémně nezralé děti mají také zvýšené riziko metabolických a kardiovaskulárních chorob, poruch růstu a mikrocefalie. Předčasně narozené děti mají zvýšené riziko těchto onemocnění díky abnormálnímu růstu ex utero (Hofman PL et al., 2006, Ong KK et al., 2015). Se stoupajícím počtem dlouhodobě přežívajících extrémně nezralých dětí je proto nutné se zaměřit především na jejich dlouhodobou prognózu a rizika nejen v průběhu dětského věku, ale i v dospělosti, včetně vyhodnocení postnatálního růstu (Ranke MB et al., 2015). Již hodnocení časného postnatálního růstu je u nedonošených dětí problematické. K posouzení adekvátního růstu nelze totiž využívat standardů k hodnocení růstu v prenatalním období, protože jsou odrazem ideálního fetálního růstu. (Fenton TR, Kim JH, 2013, Horemuzova E et al., 2014). Růst extrémně nezralých dětí by měl být hodnocen na základě percentilových grafů pro specifickou skupinu nedonošených novorozenců (Fenton TR, Kim JH, 2013).

Obr. 1 a 2. Percentilové grafy antropometrických parametrů extrémně nezralých chlapců a dívek do 50. gestačního týdne (Fenton TR, 2013)



Zdroj: Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* 2013, 13, 59.

U těchto dětí není možné používat ke srovnání ani v prvních dvou až třech letech života antropometrické parametry referenční populace, protože je známo, že nezralé děti zůstávají dlouhodobě menší než jejich vrstevníci i navzdory postnatálnímu růstovému výšvihů („catch-up“ růstu). Svůj růstový handicap mohou vyrovnávat až do období puberty (Doyle LW, 2004, Makhoul IR et al., 2009, Roberts G et al., 2013, Horemuzova E et al., 2014). Až 7% extrémně nezralých dětí může mít déletrvající nebo trvalé postnatální růstové selhání (Saigal S et al., 2006, Euser AM et al., 2008, Roberts G et al., 2013).

1.2. Novorozenci s nízkou porodní hmotností a s intrauterinní růstovou retardací (SGA/IUGR)

Děti, které se narodily s porodní hmotností či délkou nižší, než by odpovídalo jejich gestačnímu stáří (definováno jako porodní hmotnost a/nebo délka minimálně 2 standardní odchylky (SD) pod průměrem pro daný gestační věk, tj. $<$ nebo $= -2$ SD) (Lee PA et al., 2003), jsou označovány termínem „small for gestational age“ (SGA). SGA představuje heterogenní skupinu dětí. Děti, které se narodily s nízkou porodní hmotností či délkou mohou být zdravé děti s familiárně nižšími dispozicemi, mohou to být ale i novorozenci, kteří pro intrauterinní růstovou retardaci (IUGR, intrauterine growth retardation) nedosáhly svého geneticky daného růstového potenciálu. Oproti tomu je intrauterinní růstová retardace způsobena patologickým dějem v průběhu nitroděložního života, který naruší optimální růst plodu. Porucha růstu plodu by měla být dokumentována alespoň dvěma prenatalními sonografickými vyšetřeními (Chatelain P, 2000, Lee PA et al., 2003). Příčiny intrauterinní růstové retardace mohou být rozmanité, mohou se uplatnit vlivy ze strany matky, plodu, placenty, určitou roli hrají i některé demografické faktory (viz tab. 1.). Přibližně u jedné třetiny SGA dětí se předpokládá genetická příčina (tj. fetální faktor), za dvě třetiny jsou odpovědné maternální a placentární vlivy. Z maternálních příčin je v rozvinutých zemích nejvýznamnějším etiologickým faktorem hypertenze matky, vedoucí ke snížení průtoku krve placentou, zejména je-li spojena s proteinurií a/nebo pre-eklampsií.

Tabulka 1. Vybrané faktory vedoucí k nízké porodní hmotnosti/délce (ovlivňující fetální růst)

Maternální		
	Těhotenství	Parita (nuliparita, vysoká multiparita) IUGR v předchozí graviditě Vícečetné těhotenství Nízké hmotnostní přírůstky v těhotenství Krátký interval mezi graviditami (< 6 měsíců) Neplánovaná gravidita
	Zdravotní stav	Malnutrice, malabsorpce Hypoxemie (chronické plicní onemocnění, anemie, cyanotická srdeční vada, vysokohorské prostředí) Hypertenze (chronická, preeklampsie) Chronické onemocnění ledvin Systémové choroby pojiva Prekoncepční diabetes mellitus 1. a 2. typu Infekce (zejména TORCH, HIV)
	Drogová závislost a léky	Kouření, alkohol, drogy Terapie (antimetabolity, protinádorové léky, antikoagulancia, antikonvulziva)
Fetální	Chromozomální aberace	Trisomie (21, 18, 13) Monosomie X (Turnerův sy) Delece (4p-, 5p-, 13q-, 21q-)
	Genetické defekty	Kostní dysplázie (např. achondroplázie) Dědičné poruchy metabolismu
	Kongenitální anomálie	Mikrocefalie, anencefalie Vrozené srdeční vady Vrozené vady uropoetického traktu

	Infekce	TORCH, listeriosa, syphilis, malarie
Placentární		Insuficience placenty Infarkty placenty Abrupce placenty Placenta praevia
	Strukturální abnormality	Ageneze jedné umbilikální arterie Velamentózní inzerce pupečníku Bilobární placenta Placentální hemangiomy
Demografické		Etnikum rodičů Výška a váha matky Věk matky (< 16 let, >35 let),

Novorozenec s IUGR nemusí nutně splňovat kritéria SGA. U většiny dětí, které se narodily s SGA/IUGR bývá patrné postnatální růstové zrychlení („catch-up“ růst), toto růstové zrychlení bývá patrné již v prvním půlroce života a do dvou let zpravidla tyto děti dosáhnou výšky nad - 2 SD ve srovnání s referenční populací. Pokud nedojde k růstovému zrychlení do tří let života dítěte, je již úprava růstu nepravděpodobná. Kostní věk přitom není spolehlivým indikátorem růstového potenciálu dětí s SGA (Lee PA et al., 2003).

Děti SGA/ IUGR, mají vysoké riziko rozvoje závažných zdravotních komplikací nejen v bezprostředním poporodním období, ale i v průběhu dětství, dospívání i dospělosti. Kromě zvýšeného rizika postnatálního růstového selhání (definovaného jako výška nižší než – 2SDS oproti průměru referenční populace) se předpokládá, že nižší porodní hmotnost může být ve spojení s postnatálními vlivy rizikovým faktorem pro rozvoj řady závažných chorob až v dospělosti. Především se jedná o diabetes mellitus 2. typu (DM 2), hypertenzi a kardiovaskulární choroby (CVD). Navíc riziko stoupá, pokud je postnatální růstové selhání spojeno s rychlejším nárůstem tělesné hmotnosti. Možné důsledky IUGR jsou shrnuty v tabulce. 2. (Hofman PL et al., 1997, Chatelain P, 2000, Barker DJP et al., 2002, Chernausek SD, 2012).

Tabulka 2. Důsledky intrauterinní růstové retardace (podle Chernausek SD, 2012)

<p>Růst a nástup puberty</p>	<p>SGA při narození</p> <p>Postnatální růstové selhání u části dětí (většina dětí má do 3 let catch – up růst)</p> <p>Gonadarche (začátek puberty) zpravidla ve fyziologickém rozmezí pro dané pohlaví a věk</p> <p>Možnost pubarche praecox u dívek</p> <p>Tělesné složení: ↓tělesného tuku v době porodu, ↑ přírůstky tělesného tuku později</p>
<p>Alterace systému IGF- I/inzulin</p>	<p>Cirkulující hladiny IGF- I obvykle snižené vzhledem k věku pohlaví</p> <p>Často zvýšená inzulinorezistence (mírně až středně)</p> <p>Metabolický syndrom – zvýšená prevalence</p>
<p>Změny ostatních endokrinních systémů</p>	<p>Mírná elevace TSH bez známek rozvinuté hypotyreózy</p> <p>↓ adiponectin u dětí</p> <p>↓ follistatin u dětí</p> <p>↑ expozice glukokortikoidům ve fetálním a neonatálním období</p>
<p>Zvýšené riziko chorob v dospělosti</p>	<p>Hypertenze</p> <p>Obezita</p> <p>Diabetes mellitus 2. typu</p> <p>Kardiovaskulární onemocnění</p> <p>Iktus</p>

1.2.1. Teorie fetálního původu původu chorob v dospělosti

Etiopatogeneze vztahu mezi IUGR, fetálními faktory a rozvojem chorob v dospělosti nebyla dosud zcela objasněna. Je však zřejmé, že pre- i postnatální růst a budoucí rizika jsou modulována řadou genetických faktorů, metabolickými změnami i vlivy zevního prostředí.

Antropometrické parametry, tělesné složení těla i možná metabolická rizika dětí, které se narodily s nízkou porodní hmotností, přitahují pozornost lékařů a vědců již od dob rozsáhlých epidemiologických studií prof. Barkera a spolupracovníků, kteří jako první vyslovili hypotézu fetálního původu chorob v dospělosti („Fetal origins of adult disease“) (Barker DJP, 1995, Barker DJP et al., 2002). Jejich studie byly založeny na vyšetření osob, které se narodily v době německé okupace v Nizozemí v době tzv. „Holandského hladomoru 1944-45“.

Oficiální energetické denní dávky pro dospělého se tehdy snížily z 1800 kcal v prosinci 1943 na 1400 kcal v říjnu 1944 a méně než 1000 kcal v listopadu 1944. Po osvobození v květnu 1945 stouply velmi rychle nad 2000 kcal. (Roseboom TJ et al., 2000). Pokud byly matky vystaveny hladovění v časném stadiu těhotenství, děti se narodily s přiměřenou porodní hmotností, ale měly zvýšené riziko rozvoje obezity v dospělosti. Nedostatečná výživa v prvním trimestru gravidity mohla ovlivnit diferenciaci hypotalamických center plodu, které v postnatálním období života regulují příjem stravy a růst. Matkám, které byly vystaveny nedostatečné výživě v pozdějším stadiu gravidity, se rodily děti s nižší porodní hmotností. Prognóza dětí, které byly v průběhu nitroděložního života vystaveny nedostatečné výživě, tedy závisela na období těhotenství, ve kterém byl plod podvýživě vystaven (Ravelli GP et al., 1976).

Bylo prokázáno, že nedostatečná výživa matky v průběhu gravidity (zejména v jeho druhé polovině) zvyšuje u potomků ve věku kolem padesáti let inzulinorezistenci, vedoucí k poruše glukózové tolerance, a zvyšuje riziko hypertenze a kardiovaskulárních chorob, zejména pokud byla současně spojena v dospělosti s rozvojem obezity (Barker DJP, 1995, Ravelli ACJ et al., 1998, Roseboom TJ et al., 2000). De Rooij později zjistil, že tyto změny mohou být způsobeny sníženou sekrecí inzulínu, funkční rezerva hormonogeneze kůry nadledvin **přítom** zůstává neporušena (de Rooij SR et al., 2006). Vzhledem k limitům klinických studií nebylo možné zcela přesně vysvětlit etiopatogenezi uvedených změn.

Následovala celá řada experimentálních studií na zvířecím modelu, jejichž cílem byla napodobit maternální podvýživu během gravidity. Tyto modely byly založeny na kalorické restrikci nebo na ligaci intrauterinní arterie. Restrikce energetického příjmu na 50-85% je jednou z nejužívanějších metod při studiu vlivu prenatalní podvýživy na možný rozvoj chorob v dospělosti. Matveyenko s kolegy např. prokázali, že 50% prenatalní restrikce energetického příjmu vedla u potkanů k nedostatečnému vývoji β - buněk pankreatu, aniž by byla postnatálně zvýšena rychlost jejich apoptózy (Kind KL et al., 2003, Matveyenko AV et al., 2010).

Prenatální podvýživa však nevede pouze k alteraci sekrece inzulinu a ke zvýšení inzulinorezistence. Také velikost pokusných zvířat při narození je ovlivňována výživou matky v době těhotenství (Garofano A et al., 1997). Snížení energetického příjmu nebo příjmu bílkoviny u gravidních zvířat vede u mláďat k nižší porodní hmotnosti, vyššímu krevnímu tlaku a glukózové intoleranci v dospělosti (Sathishkumar K et al., 2009, McMullen S et al., 2012).

Řada studií ukázala také možný vliv prenatalní energetické restrikce na CNS v oblasti hypothalamu a hippocampu a poruchu regulace hypothalamických orexigenních a anorexigenních neuropeptidů (Breton C et al., 2009, Shin BC et al., 2012).

Glukóza je nezbytný energetický zdroj pro vývoj plodu. Jakékoliv snížení průtoku krve placentou snižuje významně množství glukózy, které plod dostává a vede k hypoglykémii. Ta následně ovlivní sekreci inzulinu a funkci pankreatických β - buněk. Model bilaterální ligace uterinních artérií je ale obtížně reprodukovatelný. Podle Neitzkeho totiž nevedla ligace uterinních artérií u potkanů k intrauterinní růstové retardaci, takže nemohla být modelem pro nejčastější příčinu IUGR u žen v rozvinutých zemích (tj. pro snížený placentární průtok) (Neitzke U et al., 2008).

Epidemiologické, experimentální i klinické studie tedy ukázaly, že výživa může být ústředním podnětem pro programování vnímavosti k některým chorobám v dospělosti (Garofano A et al., 1997, Ravelli ACJ et al., 1998, Harding JE, 2001, Szitanyi P et al., 2007). Vzhledem k tomu, že výživa zaujímá tak významnou roli v regulaci fetálního růstu a je vhodným stimulem pro „programming“, mohla by být pojítkem ve vztahu porodní váhy a délky a následných rizik chorob v dospělosti.

Energetický metabolismus ve fetálním období je plně závislý na fungující glykolýze, zatímco

enzymy β oxidace mastných kyselin se aktivují až po narození (Pejznochová M et al., 2010). Snížený přívod glukózy vede u plodu současně ke snížení cirkulujících hladin inzulínu, insulin-like growth faktoru I a II (IGF-I a II) a ke sníženému fetálnímu růstu (Verkauskiene R et al., 2007)

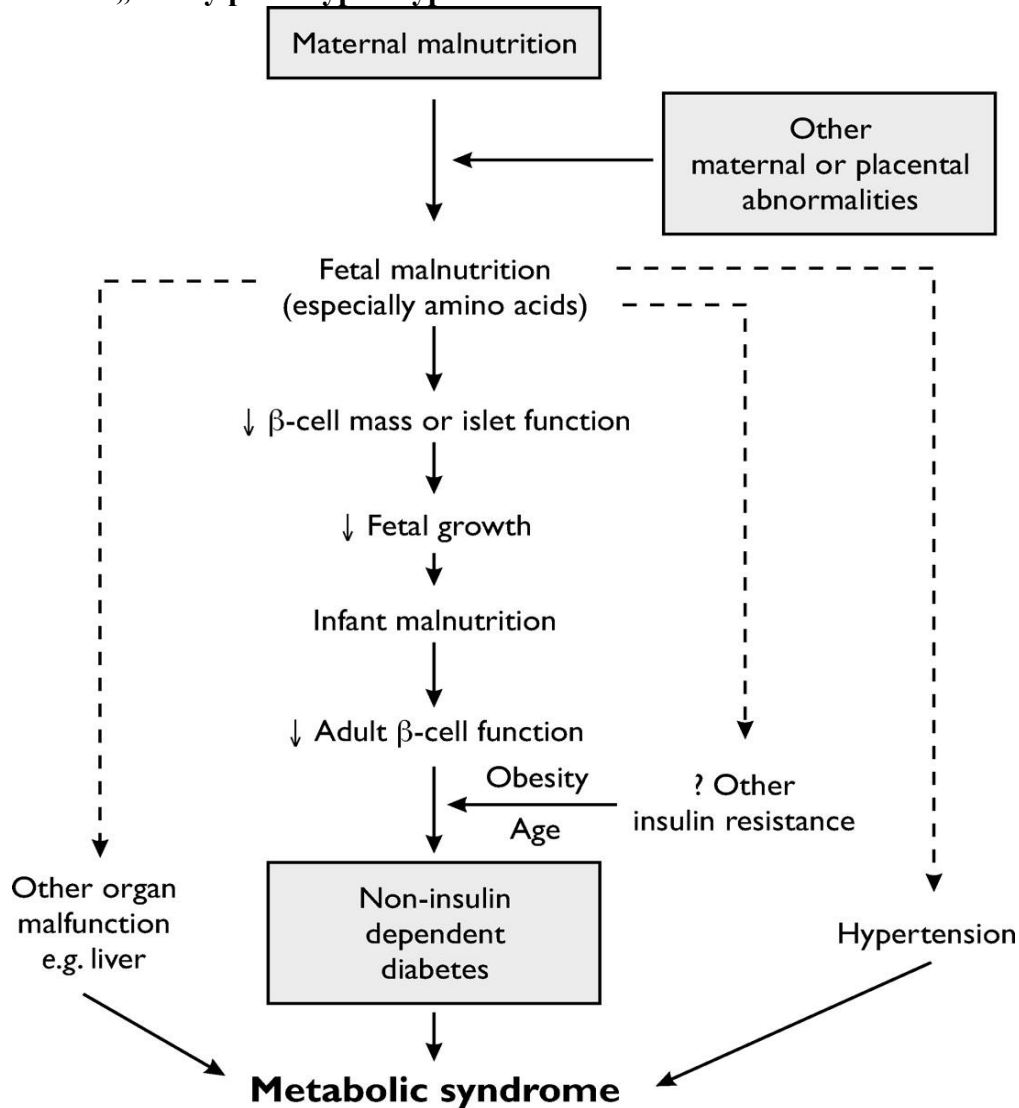
Postupně byla postulována celá řada hypotéz.

1.2.1.1. Nutriční teorie („thrifty phenotype“ hypothesis)

Tato teorie byla postulována Halesem a Barkerem v roce 1992 (Hales CN, Barker JP, 1992).

Rostoucí plod je vystaven nedostatečnému přívodu živin a jejich omezené množství „přerozděluje“. Redistribuce probíhá na úkor tělesného růstu a vývoje některých orgánů (např. pankreatu, jater, svaloviny). Nastává metabolický „reprogramming“, který vede k inzulínové rezistenci a snížené funkční kapacitě β buněk pankreatu plodu (v důsledku hypoplazie β buněk) a zajišťuje přežití v podmínkách intrauterinní malnutrice. Pokud v postnatálním období trvá stav relativní podvýživy, zůstává regulace glukózového metabolismu fyziologická. Ve chvíli, kdy se novorozenec dostává do podmínek dostatečné nebo dokonce nadměrné výživy, začíná být „reprogramming“ nevýhodný a vede k rozvoji inzulínové rezistence s poruchou glukózové tolerance. „Reprogramming“ se rozvíjí v kritickém období vývoje plodu, které je charakterizováno vysokou proliferací buněk.

Obr. 3. „thrifty phenotype“ hypothesis



Zdroj: <http://bmb.oxfordjournals.org/content/60/1/5/F3.expansion>

1.2.1.2. „Záchranná“ teorie („Fetal salvage“ hypothesis)

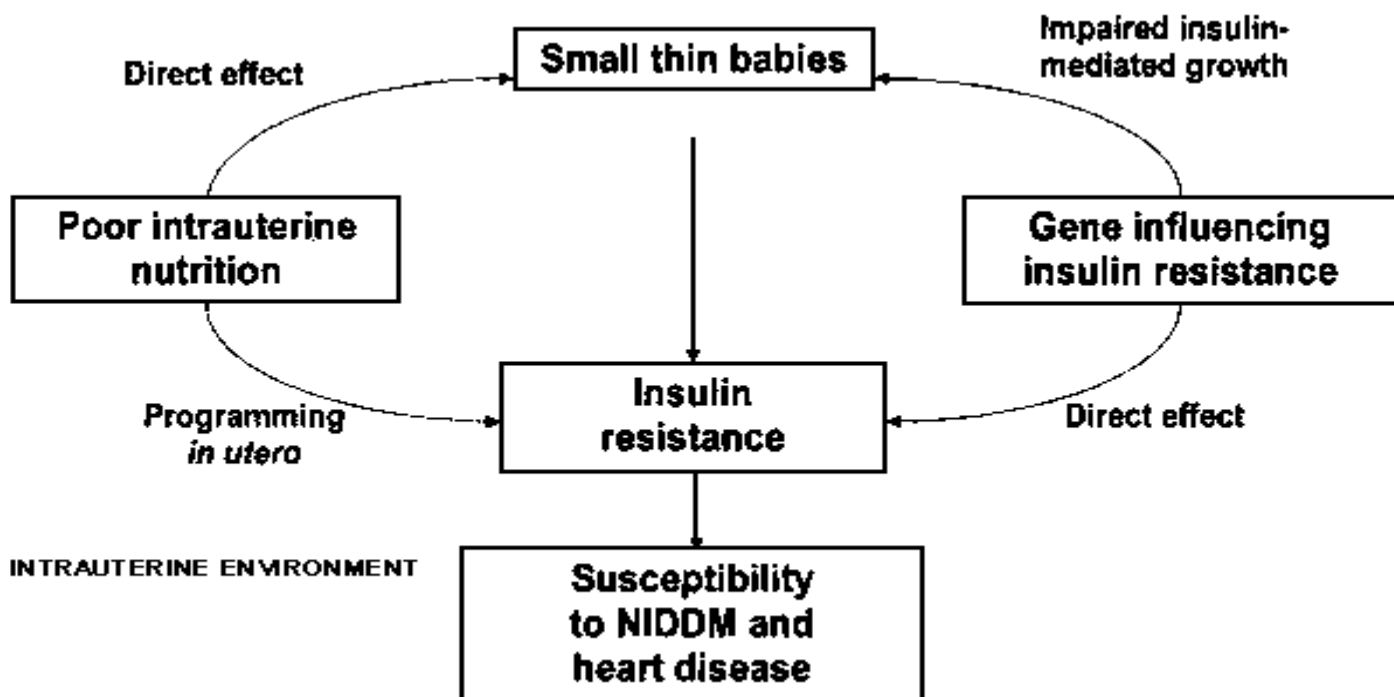
Podle „záchranné“ teorie se u plodu, který trpí nedostatečným přívodem živin, rozvíjí periferní inzulínová rezistence, která umožní redistribuci živin směrem k životně důležitým orgánům (mozek). Porucha periferní sensitivity k inzulínu je spojena s trvalým snížením počtu a funkce svalového glukózového přenašeče GLUT 1 a stimuluje β buňky pankreatu k tvorbě vyššího množství inzulínu, aby byla zachována normoglykémie. K zajištění fyziologických hladin glykémie je nutná relativní hyperinzulinémie, která svědčí proti

významnější hypoplázii β buněk (Hofman PL et al., 1997).

1.2.1.3. Fetální inzulinová teorie („Fetal insulin“ hypothesis)

„Fetální inzulinová teorie“ naopak předpokládá, že geneticky determinovaná inzulinová rezistence vede k růstové poruše a inzulinové rezistenci v dětství a dospělosti (Hattersley AT, Tooke JE, 1999).

Obr. 4 Fetální inzulinová teorie



Zdroj: Hattersley (1999) *Lancet* 353:1789.

1.2.1.4. Teorie „catch – up“ růstu

Děti s SGA mají při narození nízké hladiny inzulínu, IGF-I, IGF –binding proteinu 3 (IGFBP-3) a vysoké hladiny růstového hormonu (GH), IGF-binding proteinu 1 a 2 (IGFBP-1 a IGFBP-2). Hladiny se normalizují zpravidla v prvních třech měsících života. Periferní tkáň, které byly v průběhu nitroděložního života vystaveny chronickému nedostatku inzulínu a IGF-I, díky zvýšenému přívodu živin v časném postnatálním období, jsou náhle vystaveny zvýšeným hladinám těchto hormonů. Tkáň se brání zvýšenému účinku inzulínu a IGF-I rozvojem inzulínové rezistence.

Barker se spolupracovníky předpokládal, že kritickým obdobím pro „programming“ je období fetálního vývoje. Ukázalo se však, že rozhodujícím obdobím pro budoucí „programming“ metabolických rizik je určité „kritické okno“, kdy je organismus a jeho jednotlivé systémy vnímavý na vlivy prostředí. Toto období zahrnuje nejen období fetálního vývoje, ale i časně postnatální období.

Podle hypotézy „catch – up růstu“ je rozhodujícím obdobím pro rozvoj dlouhodobých následků intrauterinní retardace časně postnatální období. Poznatky z experimentálních studií na zvířatech ukázaly, že pokud je intrauterinní růstová retardace spojena s postnatálním catch-up růstem, délka života je významně zkrácena. Děti s postnatálním „catch – up“ růstem vykazují vyšší glukózou indukovanou inzulínovou odpověď než děti bez „catch – up“ růstu. Proto jsou děti s IUGR, u kterých dojde k časnému a kompletnímu vyrovnání růstové ztráty, více ohroženy metabolickými poruchami, inzulínorezistencí a DM 2. typu (Cianfarani S et al., 1999).

1.2.1.5. Hypotéza kmenové buňky („Stem cell“ hypothesis)

Tkáň v postnatálním období obsahují kmenové buňky, které si zachovávají schopnost sebeobnovení a regenerace tkání. Intrauterinní malnutrice by mohla vést ke snížení počtu kmenových buněk ve tkáních. Nižší počet kmenových buněk by pak v dospělosti pravděpodobně vedl k „vyčerpání“ funkce orgánů, zejména při jejich zvýšených nárocích (Geremina C, Cianfarani S, 2006).

1.2.1.6. Teorie „strážného“ („gatekeeper“ hypothesis)

Jednou z posledních publikovaných teorií je teorie „gatekeeper“. Rozdílné inzulty v době intrauterinního života vedou k rozvoji obdobného fenotypu. Nitroděložní výživa se sníženým obsahem bílkovin, vysokým obsahem tuků nebo s nízkým obsahem železa vede k rozvoji hypertenze a relativní obezity. Tyto poznatky byly základem „gatekeeper“ hypotézy. Podle této teorie jakýkoliv nutriční stres vyvolá komplexní odpověď. Existuje určitý omezený počet genů, který je ovlivněn výživou a je základem biologických změn, které vedou k rozvoji pozdějších chorob. Některé změny vedou k patologiím v časném postnatálním období, většina z nich ale nemá deletrující následky. Dlouhodobé následky mohou vznikat na podkladě biologických změn nebo se rozvíjejí přímo na pokladě nutričního impulsu (McMullen S et al., 2012).

1.2.2. Hormonální vlivy v prenatálním období

Faktory zevního prostředí mohou ovlivňovat fetální růst a vývoj prostřednictvím různých hormonů. Klíčovou roli může hrát nadměrná expozice glukokortikoidům. U zvířecího modelu (potkanů) vedla nadměrná expozice glukokortikoidům (Dexamethasonu) k fetální růstové retardaci, která byla spojena v postnatálním období s vyššími hodnotami krevního tlaku, intolerancí glukózy, hyperinzulinémií a hyperglykemií. Bylo prokázáno, že nadbytek glukokortikoidů musí působit v jasně definovaném „okně“ zvýšené citlivosti, tj. v posledním trimestru těhotenství. Pokud je plod působení kortikoidů vystaven dříve, neuplatní se negativní vliv na fetální růst ani na dlouhodobé následky.

Nedostatečná výživa snižuje aktivitu 11 β -hydroxysteroid dehydrogenázy 2. typu v placentární tkáni, která za normálních okolností chrání plod před maternálními glukokortikoidy. Tím dochází ke zvýšení hladin glukokortikoidů u plodu, které mohou následně negativně ovlivnit růst (Stocker CJ et al., 2005, Somm E et al., 2012).

1.2.3. Systém IGFs a IGF-BPs a jeho dopad na postnatální růst novorozenců

SGA/IUGR a novorozenců extrémně nezralých

Intrauterinní růst je ovlivněn především inzulinem a systémem IGFs (insulin-like growth factors, IGF-I a IGF-II). IGF-I a IGF-II jsou peptidy o nízké molekulové hmotnosti (IGF-I 7,64kDa, IGF-II 7,47 kDa), které jsou velmi podobné molekule proinzulinu svou sekvencí aminokyselin (přibližně 50%) i terciální strukturou. Jsou produkovány především jaterní buňkou. Jejich tvorba a sekrece je řízena růstovým hormonem (GH, growth hormone).

V cirkulaci se chovají jako endokrinní působky, na úrovni jednotlivých orgánů a tkání dominuje účinek parakrinní a apokrinní. Proto je nutné odlišovat cirkulující hladiny IGF od hladin tkáňových. Systém IGF-I a II a jeho vazebných bílkovin (IGFBP 1-6) je jedním z nejdůležitějších endokrinních a parakrinních systémů, které regulují fetální a placentární růst. IGF-I a II současně ovlivňují metabolismus, diferenciaci a mají mitogenní efekt v celé řadě fetálních tkání včetně placenty. Hladiny IGF-I jsou dány zčásti geneticky, ale jsou ovlivňovány i faktory zevního prostředí. Ve fetálních tkáních jsou exprimovány oba geny *IGF1* i *IGF2*, ale exprese *IGF2* genu je v průběhu druhé poloviny gravidity významnější. V pozdním stadiu gestace jsou cirkulující hladiny IGF-II 3-10x vyšší než hladiny IGF-I. Exprese genů *IGFs* i hladiny IGFs může být v průběhu nitroděložního života ovlivněna nutričními (nedostatečnou výživou) a hormonálními vlivy (nedostatek inzulínu, thyroxinu, glukokortikoidů). *IGF1* gen je vůči těmto podnětům citlivější. Intrauterinní růst ovlivňuje především IGF-II svými účinky v placentě a parakrinním působením na fetální tkáň zejména v období embryonálního vývoje. IGF-I produkovaný v játrech a dalších tkáních plodu reguluje fetální růst v závislosti na výživě. Jeho hladiny postupně stoupají od 18. - 40. gestačního týdne. Tvorba IGF-I není v průběhu nitroděložního života indukována růstovým hormonem, protože exprese receptorů GH je ve fetálních tkáních velmi nízká. Cirkulující hladiny IGF-I jsou ovlivněny především inzulínem, který je regulován dostupností glukózy (Oliver M.H. et al., 1996). Hladiny IGFs a tedy i jejich účinky mohou být dále ovlivněny hladinami IGFBPs, které jsou také regulovány nutričními a endokrinními vlivy. Inzulín nepůsobí na růstové tempo přímo, ale prostřednictvím stimulace tvorby IGF-I, přímo však ovlivňuje tvorbu tukové tkáň (adipogenezi).

Studie na zvířecím (myším) modelu ukázaly, že potomci, u kterých byl „vyřazen“ *IGF1* nebo *IGF2* gen, trpěli intrauterinní růstovou retardací. Zatímco však nedostatečná sekrece IGF-II vedla pouze k prenatální růstové poruše, efekt u myši s vyřazeným *IGF1* genem přetrvával i v postnatálním období a vedl k postnatálnímu růstovému selhání (Baker J et al., 1993). Děti s mutací *IGF1* genu se narodily s nízkou porodní hmotností, trpěli postnatální růstovou poruchou, mentální retardací a vadou sluchu (Woods KA et al., 1999, Camacho-Hubner C et al., 2002, Bonapace, G et al., 2003).

Předpokládá se, že jedním z potenciálních kandidátních mechanismů, které by mohly vysvětlovat vztah mezi nízkou porodní hmotností a chorobami v dospělosti je právě fetální „programming“ osy růstového hormonu – insulin-like růstového faktoru (GH-IGF) (Langford K et al., 1994, Jensen RB et al., 2003, Larnkjaer A et al., 2009). Hladiny IGFs a IGFBPs jsou

u plodu významně ovlivňovány úrovní výživy a intrauterinní růstová retardace naopak vede k alteraci osy GH-IGF. Názory na prediktivní hodnotu hladiny pupečnickového IGF-I ve vztahu k postnatálnímu růstu zůstávají kontroverzní (Kajantie E et al., 2003, Orbak Z et al., 2001). Bylo zjištěno, že děti s IUGR mají pupečnickové hladiny IGF-I nižší než děti s průměrnou délkou a hmotností vzhledem ke gestačnímu věku (AGA) i děti SGA. Hladiny IGF-II jsou také významně nižší u dětí s IUGR oproti dětem AGA. Naopak, děti s IUGR mají vyšší hladiny IGFBP-1 v porovnání s AGA dětmi (Tzschoppe A et al., 2015). Podle řady autorů je ale výpovědní hodnota pupečnickových hladin IGF-I nízká, protože tyto hodnoty mohou odrážet fetální malnutrici (Burkhardt T et al., 2009, Tzschoppe A et al., 2015).

Hladiny IGF-I však hrají důležitou úlohu v udržení sekrece inzulínu a glukózové homeostázy. IGF-I má schopnost se vázat na inzulínové receptory a stimulovat transport glukózy do tukových a svalových buněk, snižovat uvolňování glukózy z hepatocytů a současně snižovat sekreci inzulínu. U pacientů s diabetes mellitus byly hladiny IGF-I nízké a stoupaly při léčbě inzulínem. Pacient s delecí *IGF1* genu trpěl závažnou inzulínorezistencí, která se zlepšila při léčbě IGF-I. Je-li u zvířat snižována jaterní produkce IGF-I, dochází také k rozvoji závažné inzulínorezistence (Clemmons DR, 2004). Významný „insulin-like“ účinek rekombinantní léčby IGF-I vyplývá například i ze zkušeností Maurase. U pacientů se syndromem rezistence vůči růstovému hormonu (Laronovým syndromem), kteří byli léčeni rekombinantním IGF-I, došlo nejen ke zlepšení růstového tempa, ale i k významným změnám tělesného složení (snížení procenta tukové tkáně a zvýšenému podílu „beztukové“ tkáně). Současně došlo k významnému snížení hladin inzulínu a zvýšení glukoneogeneze při zachování fyziologických hladin glykémie. Skutečnost, že přes zvýšenou glukoneogenezi nedochází k rozvoji hyperglykémie, je důkazem, že se IGF-I aktivně podílí na transportu glukózy prostřednictvím inzulínového receptoru nebo svého vlastního IGF-I receptoru (Mauras N et al., 2000).

Nízká porodní hmotnost je spojena se zvýšeným rizikem diabetes mellitus 2. typu (DM 2), hypertenze a kardiovaskulárních chorob (CVD) v dospělosti. Burkhardt s kolegy prokázali u dětí s IUGR významně menší plochu umbilikálních arterií a maximální tlak měřený myografickým vyšetřením oproti AGA dětem. Hladiny IGF-I, které kromě jiného ovlivňují i syntézu elastinu, byly u IUGR dětí významně nižší a korelovaly s maximálním tlakem v umbilikálních arteriích. Nízké hladiny IGF-I v prenatálním období mohou vést k anatomickým změnám umbilikálních arterií a být jedním z možných vysvětlení rozvoje

hypertenze v dospělosti (Burkhardt T et al., 2009).

V dospělosti je IGF-I důležitým anabolickým hormonem, který je nezbytný kromě jiného k udržení kostní integrity a „beztukové“ svalové hmoty. V průběhu života klesají hladiny IGF-I, volného IGF-I a IGFBP-3, hladiny IGF-I jsou přitom nižší u obézních než u neobézních dospělých (Allen NE et al., 2003). Účinek cirkulujícího IGF-I je inhibován hladinami IGFBP-1, přitom hlavním regulátorem produkce IGFBP-1 v játrech jsou hladiny inzulinu v portálním řečišti, které tvorbu IGFBP-1 inhibují. Vyšší hladiny IGFBP-1 korelují rovněž se zvýšeným rizikem kardiovaskulárních chorob a poruchy glukózové tolerance v dospělosti. U dospělých s nízkými koncentracemi IGF-I spolu s vysokými koncentracemi IGFBP-3 a nízkými koncentracemi IGFBP-1 je zvýšené riziko CVD a metabolického syndromu.

Osa GH/IGF-I je jedním z regulátorů fetálního růstu, předpokládá se, že intrauterinní „programming“ osy GH/IGF může ovlivnit postnatální inzulinorezistenci a riziko CVD (Vaessen N et al., 2001, Hunt KJ et al., 2006).

1.2.4. Epigenetické faktory

Souvislost mezi IUGR s postnatálním růstovým selháním a metabolickými poruchami je nepochybná. Podle Barkerovy teorie vlivy prostředí (nedostatečná výživa) jednou pro vždy změni tělesný i hormonální status jedince, pokud k inzultu dojde v kritickém období vývoje. V posledních letech však existují důkazy, že se v tomto „programmingu“ uplatňují epigenetické mechanismy (Sebert S et al., 2011). Tyto mechanismy byly prokázány na zvířecím modelu. Pokud je například omezen růst plodů krys nedostatečným průtokem krve placentou, mají v dospělosti diabetes mellitus díky sníženému počtu β buněk pankreatu. Ten je způsoben sníženou expresí transkripčního faktoru Pdx1 uplatňujícího se při vývoji pankreatických β buněk. Snížená exprese Pdx1 je způsobena alterací DNA metylace a acetylace histonů (Park JH et al., 2008).

V humánní medicíně zatím neexistují studie jednoznačně potvrzující princip „příčina – následek“, ale existuje řada prací, které ukazují na souvislost epigenetických faktorů a fetálního růstu. Lambertini se spolupracovníky například prokázal v placentách dětí s IUGR 500 odlišně metylovaných oblastí ve spojení se 107 geny, které jsou v placentě exprimovány

(Lambertini L et al., 2011). Yuen analyzoval ve 26 placentách žen s časnou preeklampsií 807 genů a potvrdil hypometylací ve 34 různých lokusech. Tato hypometylace nebyla nalezena v placentách žen s pozdním nástupem preeklampsie a v placentách dětí, které se narodily s IUGR z jiné příčiny (Yuen RK et al., 2010). Einstein se spolupracovníky použil ke sledování epigenetických změn u dětí s IUGR hematopoetické kmenové buňky pupečnickové krve, které mohou vypovídat o odchylkách metylace v jiných, méně dostupných tkáních. Zjistil epigenetické odchylky, které by mohly být pojitkem mezi IUGR a pozdějším rozvojem DM 2. typu. Identifikoval celkem 56 kandidátních lokusů, z nichž nejdůležitější byla identifikace specifického lokusu, který odpovídá za dysregulaci metylace DNA (hypermetylací) genu pro hepatocelulární nukleární faktor 4 α (*HNF4A*) a dalších míst kodujících proteiny reagující s *HNF4A*. *HNF4A* gen sice není spojován s intrauterinní růstovou retardací, mutace v jeho promotoru však vedou k rozvoji MODY 1 (maturity onset diabetes of the young 1 (Einstein F et al., 2010). Toto pozorování je ve shodě s výsledky studií epigenetických změn u osob vystavených Holandskému hladomoru (Heijmans BT et al., 2008). Byly studovány i další dysregulace metylace DNA jiných genů, např. *IGF1*, *IGF2*, *PLAG1* a dalších.

1.2.5. Genetické faktory

Prostředí ovlivňuje asi 25% variace porodní hmotnosti, genetické vlivy představují asi 38-80%. Důležitou úlohu ve fetálním růstu mají geny, kodující inzulin, IGFs, jejich receptory a regulační proteiny. Genetické změny, které ovlivňují regulaci sekrece inzulinu, mohou ovlivnit porodní hmotnost a následně způsobit rozvoj DM 2. typu. Morgan zjistil u SGA dětí asociaci mezi jednonukleotidovým polymorfismem (single nucleotide polymorfismem) v diabetogenním *KCNJ11* (kodující kaliový kanál β -buněk) a v dalších čtyřech genech spojených s obezitou (*PFKP*, *PTER*, *SEC16B*, and *BDNF*) (Morgan AR et al., 2010).

1.2.5.1. Funkční polymorfismy *IGF1* genu

Hladiny IGF-I mohou být ovlivněny funkčními polymorfismy *IGF1* genu. Bylo popsáno několik polymorfismů *IGF1* genu (*IGF-I*, *OMIM147440*, lokus 12q22-q24.1), v jeho promotoru, intronních oblastech i v 3'UTR. Tyto polymorfismy podle některých autorů korelují s porodní hmotností i postnatálním růstem, výsledky různých studií jsou však kontroverzní. Současné tyto polymorfismy korelují s hladinami IGF-I u zdravých dospělých.

Označení jednotlivých polymorfismů se v různých studiích liší, indentifikace některých studovaných polymorfismů je uvedena v tabulce 3.

Tab. 3. Lokalizace vybraných sledovaných polymorfismů v *IGF1* genu

	NCBI reference	Synonyma	Zdroj
1.	<i>NM_000618: c.1-966(CA_n)</i> UniSTS:49688 GDB:171128 Mfd1	Promoter position 101399295	Ester, 2008
		737/738	Arends 2002
		737/738	Johnston 2003
		IGF192bp	Weber 1989
2.	UniSTS 155246 GDB:181478	Dinucleotide repeat polymorphism	Polymeropoulos 1991
		IGF1.PCR1	Arends 2002
		PCR1	Johnston 2003
3.	Microsatelite marker D12S318	D12S318 - (CA) repeat	Arends 2002
		D12S318	Johnston 2003
4.	<i>NM_000618: c.220+19376(CA)_n</i>	Intron 2 polymorphism 216bp allele	Fehringer 2008
5.	<i>NM_000618: c.465+3355(CA)_n</i> UniSTS:31781 G10727 CHLC.UTR_00655_X57025	3' untranslated region polymorphism 185bp allele	Fehringer 2008
		rs3032446	NCBI - snp
		rs61493389	
		rs71696405	
		rs5800507	
		rs35365615	
		rs34621369	

Nejčastěji sledovaným polymorfismem je repetitivní polymorfismus $(CA)_n$ v promotoru *IGF1* genu s variabilní délkou $(CA)_{10}$ až $(CA)_{24}$ (Arends N et al., 2002, Vaessen N et al., 2002). V kavkazské populaci je převládající (wild – type) alela obsahující $(CA)_{19}$ repeticí, označovaná dříve 192 bp (Vaessen N et al., 2001, Vaessen N et al., 2002). Předpokládá se, že by tento polymorfismus mohl ovlivňovat genovou expresi a tím negativně i hladinu cirkulujícího IGF-I (Rietveld I et al., 2003). Současně by mohl ovlivňovat hromadění tuku u kojenců i dospělých a vést k vyšším hmotnostním přírůstkům v průběhu kojeneckého věku (Landman E et al., 2006, Voorhoeve PG et al., 2006). Hladiny IGF-I byly u dospělých homozygotních nositelů polymorfismů $(CA)_{<19}$ a $(CA)_{>19}$ nižší ve srovnání s homozygotními nositeli alely $(CA)_{19}$ (Rietveld I et al., 2004). Současně byla u nositelů variabilních polymorfismů (tj. s nižším či vyšším počtem repeticí) zjištěna nižší senzitivita vůči inzulinu (Leen MH et al., 2004) a zvýšené riziko infarktu myokardu (Yazdanpanah M et al., 2006). Polymorfismus *IGF1* genu $(CA)_{18}$ může hrát také roli v rozvoji diabetické retinopatie (Rietveld I et al., 2006) a nefropatie (Rietveld I et al., 2006).

Jedním z dalších sledovaných polymorfismů byla repetice CT v druhém intronu *IGF1* genu (IGFI.PCR1) (Arends N et al., 2002, Johnston LB et al., 2003). Děti, které se narodily s nízkou porodní váhou vzhledem ke gestačnímu věku a nebyl u nich zaznamenán postnatální „catch – up“ růst, měly signifikantně nižší hladinu IGF-I, pokud byly nosiči alely 191 bp oproti dětem, u kterých tato alela nebyla prokázána. Oproti tomu nebyl prokázán vztah mezi mikrosatelitním markerem D12S318 (repetice CA) ležícím v 3'oblasti genu a hladinami IGF-I u dětí s nízkou porodní váhou ani u kontrolní skupiny (Arends N et al., 2002, Johnston LB et al., 2003).

Repetitivní CA polymorfismy 216 bp v intronu 2 ani 185 bp v 3'oblasti *IGF1* genu nebyly dosud studovány ve vztahu k pre – a postnatálnímu růstu, byly však spojeny s významně odlišnými hladinami IGF-I a IGF BP-3 u premenopausálních žen (Fehringer G et al., 2009).

2. CÍLE STUDIE

Extrémní nezralost, nízká porodní hmotnost či délka i intrauterinní růstová retardace představují pro dítě zvýšená rizika nejen v bezprostředním poporodním období, ale i v budoucím životě. Dojde-li k předčasnému porodu, je celosvětově diskutována tzv. „hranice životaschopnosti“, tj. gestační týden, ve kterém zahájit jednoznačně resuscitaci a intenzivní péči. Jedním z dlouhodobých následků extrémní nezralosti může být i postnatální růstové selhání, které vyžaduje včasnou diagnostiku a léčbu. Děti SGA či IUGR, které se narodily доноšené nebo mírně nezralé, mohou mít také postnatální růstové selhání. Tyto děti mají navíc v dospělosti zvýšené riziko některých onemocnění, především diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulárních chorob. Etiopatogeneze zvýšeného rizika nebyla doposud jednoznačně vysvětlena, jedním z možných vysvětlení je alterace osy IGFs a IGF-BPs, která může být ovlivněna řadou genetických a epigenetických faktorů i vlivy zevního prostředí. Polymorfismy *IGF1* genu mohou být jedním z genetických faktorů, které ovlivňují hladiny IGF-I a představují tak pro nositele zvýšené riziko zmiňovaných chorob v dospělosti.

Na základě těchto skutečností byly stanoveny tři hlavní cíle studie:

1. Prvním z cílů studie bylo porovnání míry přežití a prognózy v prvních pěti letech života u dětí, které se narodily na „hraně životaschopnosti“ mezi 22. – 25+6. týdnem gestace a dětí, které jsou považovány za „životaschopné“, tj. narozené mezi 26. – 27+6. týdnem gestace.
2. Dalším cílem studie bylo prospektivní sledování a vyhodnocení antropometrických parametrů (výšky, váhy, indexu tělesné hmotnosti – BMI a obvodu hlavy, některých tělesných obvodů a kožních řas) u 72 extrémně nezralých dětí narozených mezi 22. a 25+6 gestačním týdnem a 85 dětí narozených mezi 26. – 27+6 týdnem života ve věku 2 a 5 let.
3. Třetím cílem byla analýza výskytu variabilního počtu repeticí $(CA)_n$ v promotoru *IGF1* genu a dalších vybraných polymorfizmů u 208 novorozenců, kteří se narodili v termínu s hmotností odpovídající gestačnímu týdnu (AGA), 61 novorozenců s SGA/IUGR a u 53 extrémně nezralých novorozenců. Současně byl sledován i postnatální růst v prvních dvou letech života.

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1. Soubor pacientů

3.1.1. Soubor extrémně nezralých novorozenců, u kterých byla sledována míra přežití a závažné zdravotní následky

Do první části studie bylo zařazeno všech 242 dětí, které se narodily mezi 22+0 a 27+6 týdnem gravidity a byly přijaty na Neonatální jednotku intenzivní péče Gynekologicko-porodnické kliniky VFN a 1. LF UK v letech 1999-2003. U dětí, které se narodily mezi 22+0 až 23+6 týdnem gravidity, byla zahajována intenzivní péče v případě pozitivního informovaného souhlasu rodičů. Nebyli resuscitováni novorozenci s vrozenými vývojovými vadami. U vitálních novorozenců narozených po 23. gestačním týdnu byla resuscitace zahajována bez nutnosti informovaného souhlasu rodičů, byla ale ukončena, pokud nedošlo k reakci do pěti minut od jejího zahájení. Od 25+0 týdne byli novorozenci plně resuscitováni. Gestační věk byl stanoven na základě data poslední menstruace, pokud časné antenatální ultrazvukové vyšetření nenaznačovalo jiný termín porodu s diskrepancí větší než jeden týden. V případech těhotenství po "in vitro fertilizaci" bylo gestační stáří odvozeno od data jejího provedení. Data byla shromažďována prospektivně od novorozeneckého období do 5 let života. V prvním roce života byly děti opakovaně vyšetřeny zkušeným neurologem v tříměsíčních intervalech, ve druhém roce proběhlo toto vyšetření v intervalu 6 měsíců. Po druhém roce života byly neurologem sledovány pouze ty děti, které nadále neurologickou péčí vyžadovaly. V pěti letech věku byly děti vyšetřeny pediatrem na Klinice dětského a dorostového lékařství VFN a 1.LF UK, současně absolvovaly psychologické vyšetření. Mentální vývoje byl hodnocen pomocí Stanford-Binet Intelligence Scale (třetí revise). Závažné postižení bylo definováno jako: dětská mozková obrana, jejíž rozsah neumožňuje samostatnou chůzi (neschopnost chodit nebo chůze s oporou), opožděný mentální vývoj (IDQ < 70), závažná porucha zraku nebo sluchu.

3.1.2. Soubor extrémně nezralých dětí, u kterých byl studován vývoj antropometrických parametrů

Do druhé části studie byly zařazeny děti, které byly hospitalizovány na Neonatologické

jednotce intenzivní péče perinatologického centra Gynekologicko – porodnické kliniky VFN a 1. LF UK v období mezi lednem 1999 a prosincem 2002. Soubory dětí první a druhé skupiny se tedy částečně překrývají. V tomto období se v perinatologickém centru narodilo 204 extrémně nezralých novorozenců (<28 gestační týden). Studie se účastnilo 157 ze 175 přeživších dětí (87%). Do první skupiny bylo zařazeno 72 extrémně nezralých dětí, které se narodily mezi 22+0 a 25+6. gestačním týdnem s porodní hmotností 692±133 g. Druhou skupinu tvořilo 85 dětí narozených mezi 26+0 a 27+6 gestačním týdnem s porodní hmotností 930±172 g. Výška, hmotnost a obvod hlavy byly měřeny stejnou osobou v termínu, který byl co nejbližší druhým a pátým narozeninám (24 a 60 měsíců kalendářního věku). V rámci vyšetření v pěti letech věku byly měřeny i některé další antropometrické parametry, včetně obvodu levé paže, obvodu pasu a boků, současně byly měřeny Harpendenským kaliperem i vybrané kožní řasy na deseti standardizovaných místech. Byl vypočítán index tělesné hmotnosti (Body mass index, BMI) a antropometrické parametry byly vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka (standard deviation, SD) a jako skóre standardní odchylky (standard deviation scores, SDS) v porovnání s publikovanými standardy pro dvou a pětileté české děti (Kobzová J et al., 2004).

3.1.3. Soubor dětí SGA/IUGR, extrémně nezralých novorozenců a dětí AGA, u kterých byly studovány polymorfismy *IGF1* genu ve vztahu k vývoji antropometrických parametrů

Do třetí části studie byly zařazeny děti, které se narodily v období mezi lednem 2006 a dubnem 2007 na Gynekologicko - porodnické klinice VFN a 1. LF UK. Vylučujícími kritérii pro zařazení do studie byla: vícečetná těhotenství, chromosomální aberatace, genetické syndromy, déletrvající léčba matky glukokortikoidy, závažné neurologické postižení a jiná závažná onemocnění, která by mohla ovlivnit pre – a postnatální růst a hmotnostní přírůstky. Soubor tvořily tři skupiny dětí.

Do první skupiny bylo původně zařazeno 212 novorozenců narozených v termínu (37+0 gestační týden až 41+6 gestační týden) s přiměřenou porodní délkou a hmotností (AGA, appropriate for gestational age), tj. do ± 2 SDS dle českých standardů (Kobzová et al., 2004). U čtyř dětí nebylo možné z technických důvodů dokončit genotypizaci, proto byly tyto děti posléze ze studie vyloučeny. U 196 dětí (104 chlapců a 92 dívek) byly porodní váha a porodní

délka měřeny na porodním sále pomocí standardní měřicí techniky. U 164 (83%) dětí byly délka, hmotnost a obvod hlavy zjištěny dotazem ve věku 18 měsíců, kdy byly děti měřeny praktickým dětským lékařem v rámci preventivní prohlídky.

Do druhé skupiny bylo zařazeno původně 61 dítě, které se narodily v očekávaném termínu porodu s hmotnostní nízkou vzhledem ke gestačnímu věku (small for gestational age, SGA), to znamená s porodní délkou a/nebo hmotnostní pod – 2 SDS (Lee PA et al., 2003) oproti referenční populaci. U 44 dětí (72%) byla prenatálně diagnostikována intrauterinní růstová retardace nejméně dvěma prenatálními ultrazvukovými vyšetřeními. U dvou dětí nebylo možné dokončit genotypizaci.

Třetí skupinu tvořilo 53 dětí extrémně nezralých. Děti SGA/IUGR a extrémně nezralé děti byly dále prospektivně sledovány v pravidelných intervalech ve věku 6, 12 a 24 měsíců. Délka a hmotnost byly měřeny standardizovanými metodami (kalibrovaná kojenecká váha, bodymetr).

3.2. Metody genotypizace

Nesrážlivá krev pro izolaci genomické DNA byla odebírána s informovaným souhlasem rodičů po porodu z placentární části umbilikální žíly. DNA byla ze vzorků periferní krve izolována převážně vysolovací metodou. Fenol-chloroformová extrakce byla použita v případech malého množství získané krve.

Ve vzorcích byl analyzován repetitivní polymorfismus cytosin-adenosin (CA)_n v promotoru *IGF1* genu, který se nachází na 12. chromozomu (*OMIM: 147440; GeneBank: NT_019546, complement (26271866-26356514)*). (CA)_n sekvence začíná v 5' nekódující promotorové oblasti a končí 967 bp před start kodónem pro transkripční varianty NM_000618, NM_001111283 a NM_001111285 (*NM_000618:c.1-967(CA)11-22*). Oblasti byly amplifikovány metodou PCR za použití reagensí Plain Combi PPP Master Mix Top-Bio s.r.o. Vždy jeden z dvojice primerů byl označen fluorescenčním markrem 6-FAM. Část amplifikovaného vzorku (1 µl) byla smíchána s 0,5 µl velikostního standardu (GeneScan-500ROX - Applied Biosystems) a denaturována v 8,5 µl formamidu (Hi-Di formamide - Applied Biosystems). Takto připravená směs byla podrobena fragmentační analýze na gelovém kapilárním elektroforetickém systému (ABI3100Avant – Applied Biosystems).

Výsledky byly vyhodnoceny za pomoci programu GeneMapper Software verze 3.5 (Applied Biosystems).

3.3. Statistické zpracování

3.3.1. Statistické metody zpracování souboru extrémně nezralých novorozenců, u kterých byla sledována míra přežití a závažné zdravotní následky

Data byla zpracována pomocí SPSS pro Windows (verze 16). Míra přežití a rizika výskytu závažných postižení byla posuzována v zobecněném lineárním modelu (binární odezva) s využitím log-link spojovací funkce. Tato metoda poskytuje výsledky v souladu s logistickým regresním modelem pro číselné prediktory (gestační týden, porodní hmotnost) a se stanovením křížového poměru (odds ratio, OR) odhadu. Pro posouzení dichotomických prediktorů (pohlaví, narození mezi 25.-27. gestačním týdnem, jednočetná těhotenství) byla použita kontingenční tabulka typu 2x2 (čtyřpolní tabulka). K vyhodnocení míry závislosti různých typů postižení na gestačním týdnu a porodní hmotnosti byla použita regresní analýza. Hladina významnosti byla porovnáována s výsledkem Mann-Whitney U testu. K porovnání kategoričké proměnné byl použit χ^2 test. K porovnání kumulativního přežití v závislosti na gestačním týdnu byla použita Kaplan-Meierova analýza.

3.3.2. Statistické metody zpracování antropometrických parametrů v souboru extrémně nezralých dětí

Data byla analyzována pomocí SPSS pro Windows (verze 16). Skupiny I a II byly mezi sebou porovnány pomocí neparametrického Mann-Whitney U testu. Údaje dětí obou skupin byly srovnány s daty referenční populace pomocí neparametrického Wilcoxonova párového testu (signed rank test).

3.3.3. Statistické metody zpracování vztahu polymorfismů *IGF1* genu ve vztahu k vývoji antropometrických parametrů

Korelace mezi repetitivním (CA)₁₁₋₂₃ polymorfismem a dalšími sledovanými polymorfismy

IGF1 genu, a antropometrickými parametry včetně hmotnosti, délky a obvodu hlavy vyjádřenými jako průměr \pm SD byly analyzovány pomocí SPSS software (verze 13.0). Statistická významnost pro kontinuální proměnné byla hodnocena pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a t-testu pro dvě nezávislé proměnné. Pro analýzu kategorických proměnných byly použity Pearsonův χ^2 test a Fisherův exaktní test.

3.4. Etická komise

Všechny části studie byly schváleny Etickou komisí VFN a 1. LF UK v Praze a děti byly do studie zařazeny vždy s informovaným souhlasem rodičů.

4. VÝSLEDKY

4.1. Dlouhodobé přežití a výskyt závažných morbidit extrémně nezralých novorozenců

Five-year survival without major disability of extremely preterm infants born at 22–27 weeks' gestation: Could the “grey zone” be narrowed by an active perinatal and neonatal approach?

B Zlatohlávková, J Kytnarová, A Kuběna, A Fleischnerová, M Dokoupilová, R Plavka

Acta Paediatr. 2010 Nov; 99 (11):1618-23

Z 242 extrémně nezralých novorozenců narozených ve $25,25 \pm 1,41$ gestačním týdnů hospitalizovaných na JIRP perinatologického centra Gynekologicko-porodnické klinice VFN a 1. LF UK bylo 129 chlapců (53,3%) a 113 dívek (46,7%). 11 dětí (4,5%) se narodilo s hmotností/délkou nízkou vzhledem ke gestačnímu věku (SGA). V době od narození do očekávaného termínu porodu zemřelo 34 dětí (14,1%), v době mezi očekávaným termínem porodu a jedním rokem věku zemřelo dalších 6 dětí (2,5%). Celkové pětileté přežití činilo 83,5% (202 dětí). Z těchto dětí bylo 174 dětí (84,1%) vyšetřeno ve věku 5 let, u další 21 dětí, které byly vyšetřeny pouze ve dvou letech, byla data zjištěna dotazem u praktického lékaře. Celkem tedy bylo možné vyhodnotit klinická data u 195 dětí (97%). Z tohoto počtu mělo 29 dětí (14,9%) závažné postižení, 10 dětí (5,1%) trpělo dětskou mozkovou obrnou, 12 dětí (6,2%) mělo IQ < 70, 11 dětí (5,6%) mělo zrakové postižení a 5 dětí (2,6%) vadu sluchu.

4.2. Vývoj antropometrických parametrů extrémně nezralých dětí

Postnatal growth of 157 children born as extremely premature neonates

Kytnarová J, Zlatohlávková B, Kuběna A, Marková D, Dokoupilová M, Plavka R and Zeman J

J Paediatr Child Health. 2011 Mar;47(3):111-6.

Antropometrické parametry, tj. výška, váha, BMI a obvod hlavy (OH) měřené ve dvou a v pěti letech věku u 72 extrémně nezralých novorozenců narozených ve 22+0 až 25+6 gestačním týdnů (skupina I) a 85 dětí narozených ve 26+0 až 27+6 týdnů gravidity (skupina II) je uveden v tabulce 4. Průměrná výška, hmotnost, BMI a obvod hlavy byly ve dvou i pěti

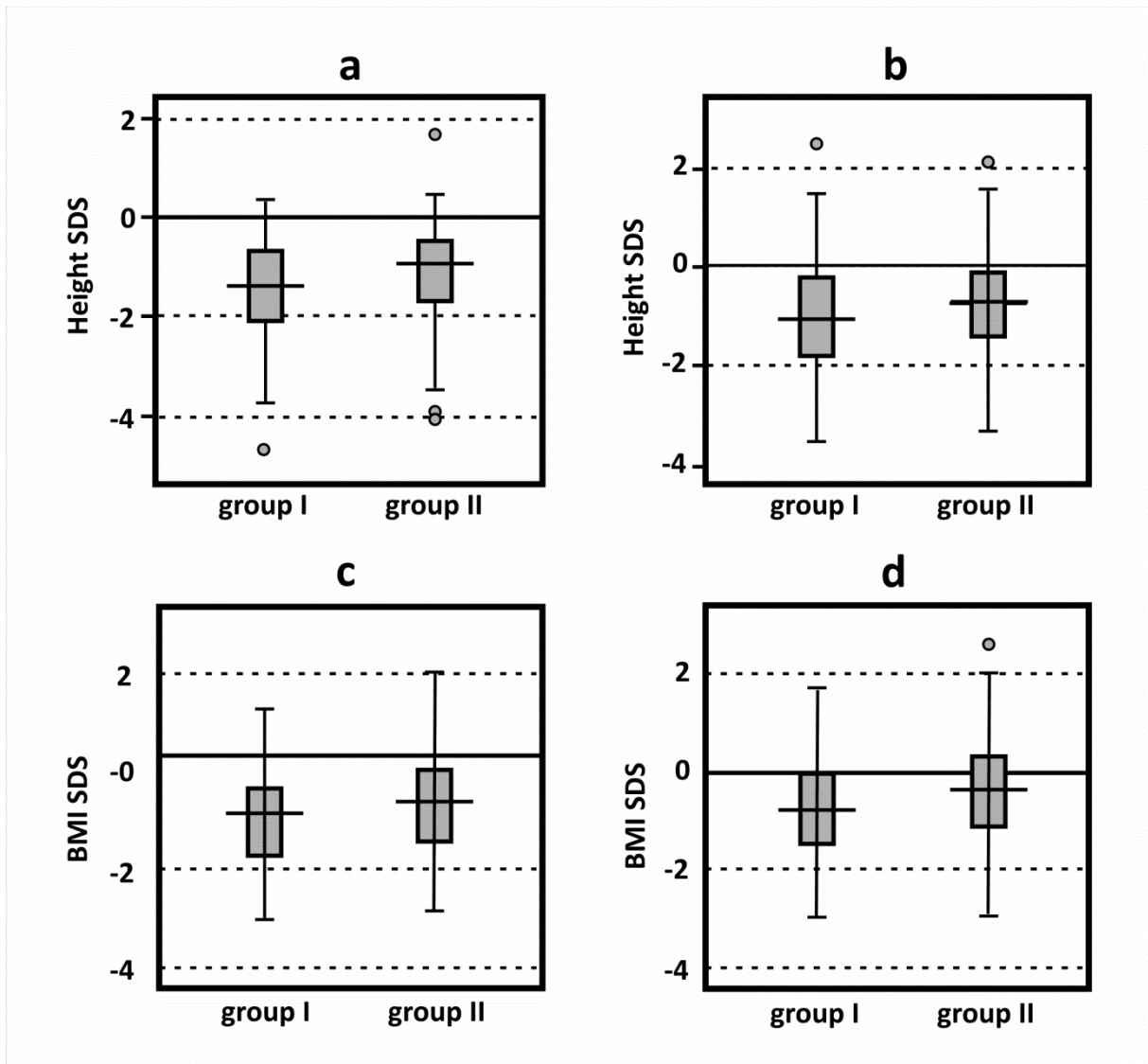
letech nižší ve skupině I v porovnání se skupinou II. Přestože byl v obou sledovaných skupinách dětí pozorován postnatální zrychlený růst (“catch – up” růst), skóre směrodatné odchylky zůstávalo ve dvou i pěti letech významně pod průměrem referenční populace ($P < 0.01$). Obdobný trend byl pozorován i v případě BMI, i když byl méně statisticky významný ($P < 0.05$) (graf 2).

Tabulka 4. Antropometrické parametry 72 extrémně nezralých dětí narozených mezi 22. a 25+6. týdnem gravidity (skupina I) a 85 dětí narozených mezi 26. a 27+6. týdnem gravidity (skupina II) ve věku 2 a 5 let

		skupina I		skupina II		
Počet dětí (n)		72		85		
délka těhotenství (týdny)		22+0 - 25+6		26+0 - 27+6		
porodní hmotnost ± SD (g)		692 ± 133		930 ± 172		
antropometrické parametry ve 2 letech						
95% konfidenční interval						
		dolní	horní		dolní	horní
výška ± SD (cm)	82.8 ± 4.1	82.36	83.31	84.3 ± 4.0	83.88	84.74
průměr SDS	-1.5	-1.61	-1.36	-1.1	-1.19	-0.97
hmotnost ± SD (kg)	10.4 ± 1.2	1.24	10.52	10.9 ± 1.5	10.74	11.08
průměr SDS	-1.9	-2.05	-1.80	-1.4	-1.58	-1.31
BMI ± SD (kg/m²)	15.1 ± 1.3	14.90	15.22	15.4 ± 1.6	15.22	15.56
průměr SDS	-0.9	-1.01	-0.79	-0,7	-0.79	-0.54
obvod hlavy ± SD (cm)	47.6 ± 1.6	47.39	47.77	48.4 ± 1.8	48.20	48.60
průměr SDS	-0.7	-0.84	-0.56	-0.1	-0.21	0.05
Antropometrické parametry v 5 letech						
výška ± SD (cm)	107.5 ± 5.3	106.86	108.18	109.2 ± 5.2	108.59	109.73
průměr SDS	-1.0	-1.10	-0.82	-0.7	-0.84	-0.61
hmotnost ± SD (kg)	16.9 ± 2.5	16.55	17.20	17.9 ± 2.9	17.54	18.18
průměr SDS	-1.1	-1.29	-0.97	-0.7	-0.87	-0.60
BMI ± SD (kg/m²)	14.4 ± 1.4	14.25	14.61	14.9 ± 1.6	14.76	15.12
průměr SDS	-0.7	-0.85	-0.59	-0.3	-0.47	-0.22
obvod hlavy ± SD (cm)	49.2 ± 1.6	48.97	49.40	50.0 ± 1.8	49.82	50.24
průměr SDS	-1.2	-1.37	-1.08	-0.6	-0.73	-0.46
obvod pasu ± SD (cm)	49.5 ± 3.53	49.10	49.90	51.1 ± 4.5	50.60	60.70
obvod levé paže ± SD (cm)	16.3 ± 1.4	16.10	16.50	16.6 ± 1.6	16.40	16.80
součet SF ± SD (mm)	67.9 ± 20.1	64.80	71.16	70.18 ± 16.5	87.90	72.44
triceps - SF ± SD (mm)	9.4 ± 1.7	9.11	9.59	9.95 ± 2.02	9.69	10.21
subskapulární - SF ± SD (mm)	5.9 ± 3.58	5.43	6.47	5.91 ± 2.10	5.64	6.17
abdominální - SF ± SD (mm)	8.1 ± 4.63	7.45	8.79	9.1 ± 5.44	8.42	9.77

Graf 2. Výška a BMI (vyjádřené jako SDS průměru referenční populace) u 85 extrémně nezralých dětí narozených ve 22. - 25+6. týdnu gravidity (skupina I) a 72 dětí narozených ve 26. - 27+6. týdnu gravidity (skupina II) ve věku dvou a pěti let

a – výška ve dvou letech, b – výška v pěti letech, c – BMI ve dvou letech, d – BMI v pěti letech



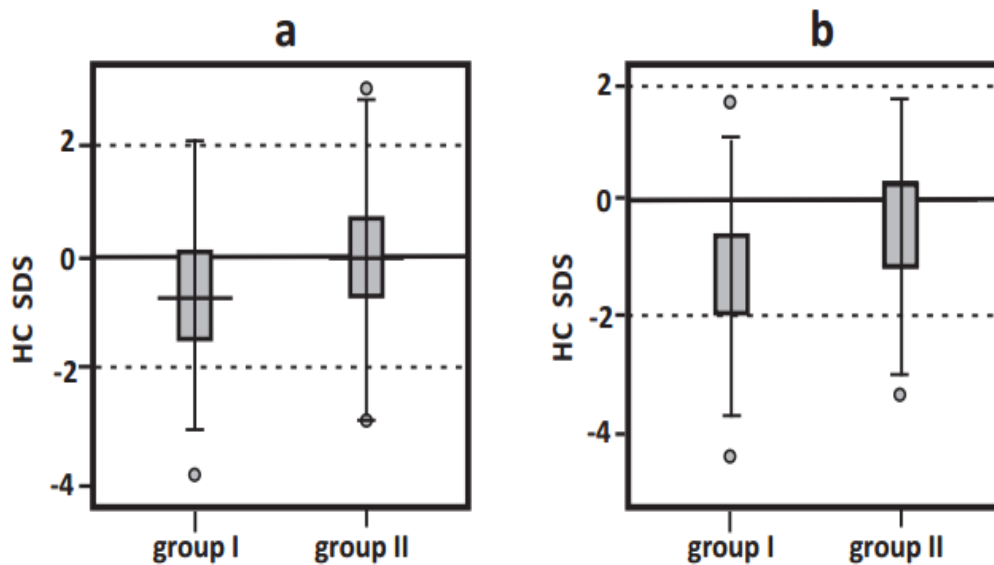
Height SDS – skóre směrodatné odchylky výšky, BMI SDS – skóre směrodatné odchylky BMI

U dětí, které se narodily ve 22+0 až 25+6 gestačním týdnem bylo růstové selhání (definováno jako výška pod – 2 SDS) pozorováno u 18 dětí ve věku dvou let (25%) a u 13 dětí (18%) ve věku pěti let. Ve skupině II, tj. ve skupině dětí narozených ve 26+0 až 27+6 gestačním týdnem, mělo růstové selhání 15 dětí ve věku dvou let (17,6%), ale ve věku pěti let bylo pozorováno jen u 7 dětí (8,2%).

Obvod hlavy (OH) byl ve dvou letech věku signifikantně nižší ve skupině dětí, které se narodily v nižších gestačních týdnech mezi 22.- 25+6 týdnem těhotenství oproti dětem narozeným mezi 26. – 27+6 týdnem těhotenství ($P < 0.01$). Překvapivý byl zřetelný pokles v dynamice růstu obvodu hlavy mezi druhým a pátým rokem života v obou sledovaných skupinách. Výsledkem byl pokles OH-SDS v porovnání s kontrolní populací (graf 3). Zpomalení dynamiky růstu OH bylo spojeno s mírným vzestupem počtu dětí s mikrocefalií (definována jako OH pod – 2 SDS). Ve skupině I byla mikrocefalie zjištěna u 10 dětí (13,8%) ve věku dvou let a u 13 dětí (18%) ve věku pěti let. Ve skupině II byla mikrocefalie prokázána u 8 dětí (9,4 %) ve věku dvou let a u 10 dětí (11,7%) ve věku pěti let. V pěti letech mělo mikrocefalii celkem v obou skupinách 23 dětí ze 157 sledovaných extrémně nezralých dětí (14,6 %).

Graf 3. Obvod hlavy (vyjádřený jako SDS průměru referenční populace) u 85 extrémně nezralých dětí narozených mezi 22. a 25+6. týdnem gravidity (skupina I) a 72 dětí narozených mezi 26. a 27+6. týdnem gravidity (skupina II) ve věku dvou a pěti let.

a – obvod hlavy (HC, head circumference) ve 2 letech , b – obvod hlavy (HC) v 5 letech



Mezi skupinami I a II nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v měřených tělesných obvodech ani v tloušťkách kožních řas. Vzhledem k absenci referenčních dat pro všechny měřené obvody a řasy nebylo možné tyto hodnoty porovnat s referenční populací.

4.3. Polymorfismy IGF1 genu ve vztahu k postnatálnímu růstu dětí SGA/IUGR a u dětí extrémně nezralých

4.3.1. Repetitivní polymorfismus (CA)_n v promotoru *IGF1* genu

Cytosine-Adenosine (CA)_n repeats polymorphism in IGF-I gene and early growth in infants born appropriate and small for gestational age

Kytnarová J, Veselá K, Zlatohlávková B, Dohnalová A, Fedorová M, Kršek M and Zeman J

Neuro Endocrinol Lett. 2009;30(4):501-5.

Prospektivní studie faktorů ovlivňující postnatální růst a představující riziko některých chorob v dospělosti u dětí narozených s nízkou porodní hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a dětí s velmi nízkou porodní hmotností. IGA NR 9374-3. Kršek M., Kytnarová J. Závěrečná zpráva.

V našem souboru dětí se pohyboval počet cytosin-adenosin (CA)_n „repeat“ *IGF1* genu v rozsahu od (CA)₁₁ do (CA)₂₃. Polymorfismus (CA)₁₀ and (CA)₂₄ nebyl nalezen. Rozložení jednotlivých polymorfismů u dětí AGA, SGA a extrémně nezralých se významně nelišilo v jednotlivých skupinách a je uvedeno v tabulce 5.a. a 5.b.

Tabulka 5.a. Rozložení polymorfismů cytosin-adenosin (CA)_n IGF1 genu

Skupina	Počet ve skupině	(CA) _n polymorfismus		Celkem
		ostatní	19/19	
AGA	počet (n)	95	113	208
	%	45,7%	54,3%	100,0%
SGA/IUGR	počet (n)	28	31	59
	%	47,5%	52,5%	100,0%
NENPH	počet (n)	22	31	53
	%	41,5%	58,5%	100%
Celkem	počet (n)	145	175	320
	%	45,3%	54,7%	100%

AGA – donošení novorozenci s průměrnou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

$$\chi^2 = 0,430 \quad p = 0,807$$

Tabulka 5.b. Rozložení polymorfismů cytosin-adenosin (CA)_n IGF1 genu

Skupina	Počet ve skupině	(CA) _n polymorfismus			Celkem
		19/19	19/x, x/19	x/x	
AGA	počet (n)	95	90	23	208
	%	45,7%	43,3%	11,1%	100%
SGA/IUGR	počet (n)	28	28	3	59
	%	47,5%	47,5%	5,1%	100%
NENPH	počet (n)	22	22	9	53
	%	41,5%	41,5%	17%	100%
Celkem	počet (n)	145	140	35	320
	%	45,3%	43,8%	10,9%	100%

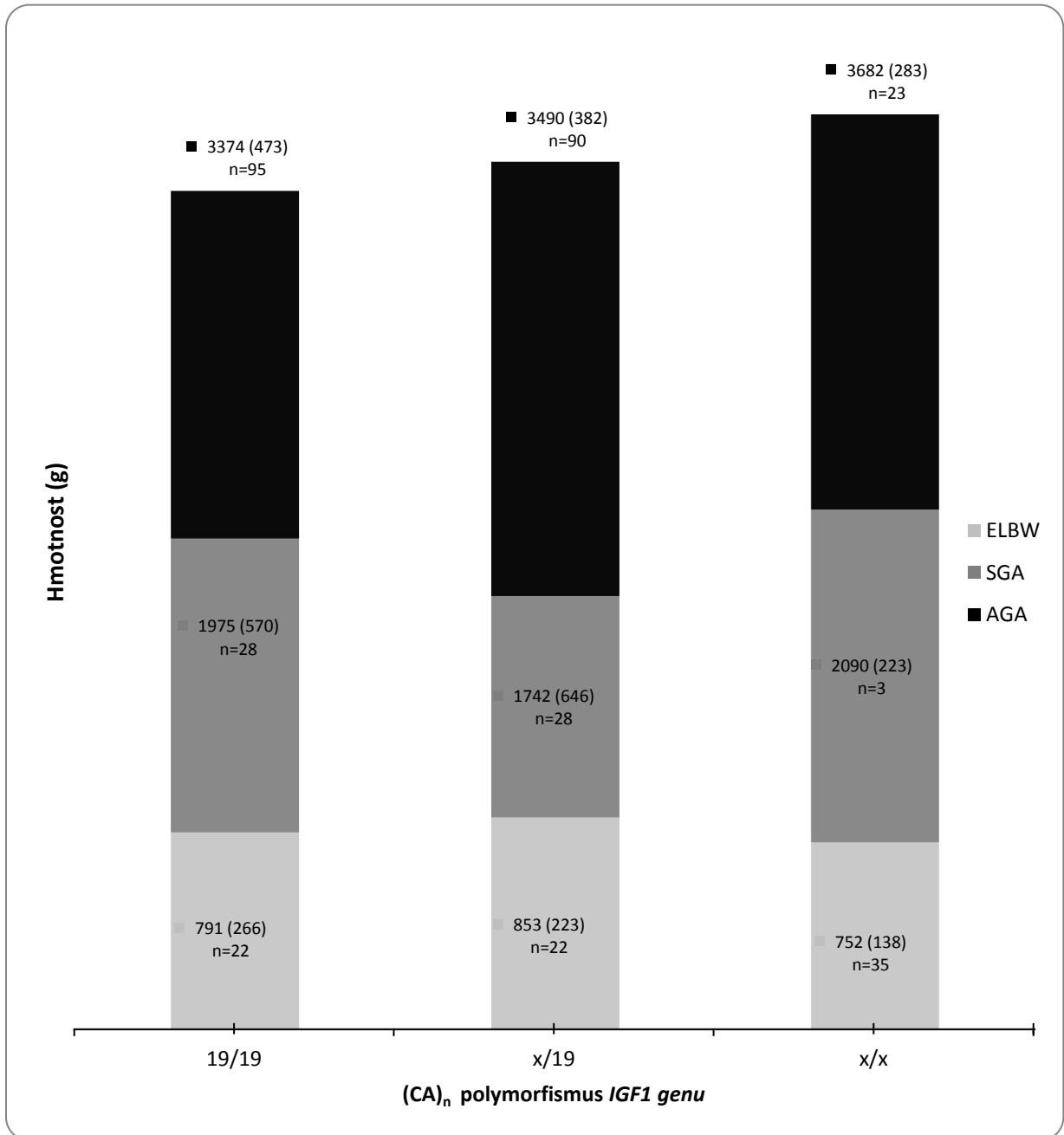
AGA – donošení novorozenci s průměrnou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

$$\chi^2 = 4,113 \quad P > 0,05$$

Mezi jednotlivými skupinami dětí nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v distribuci genotypů.

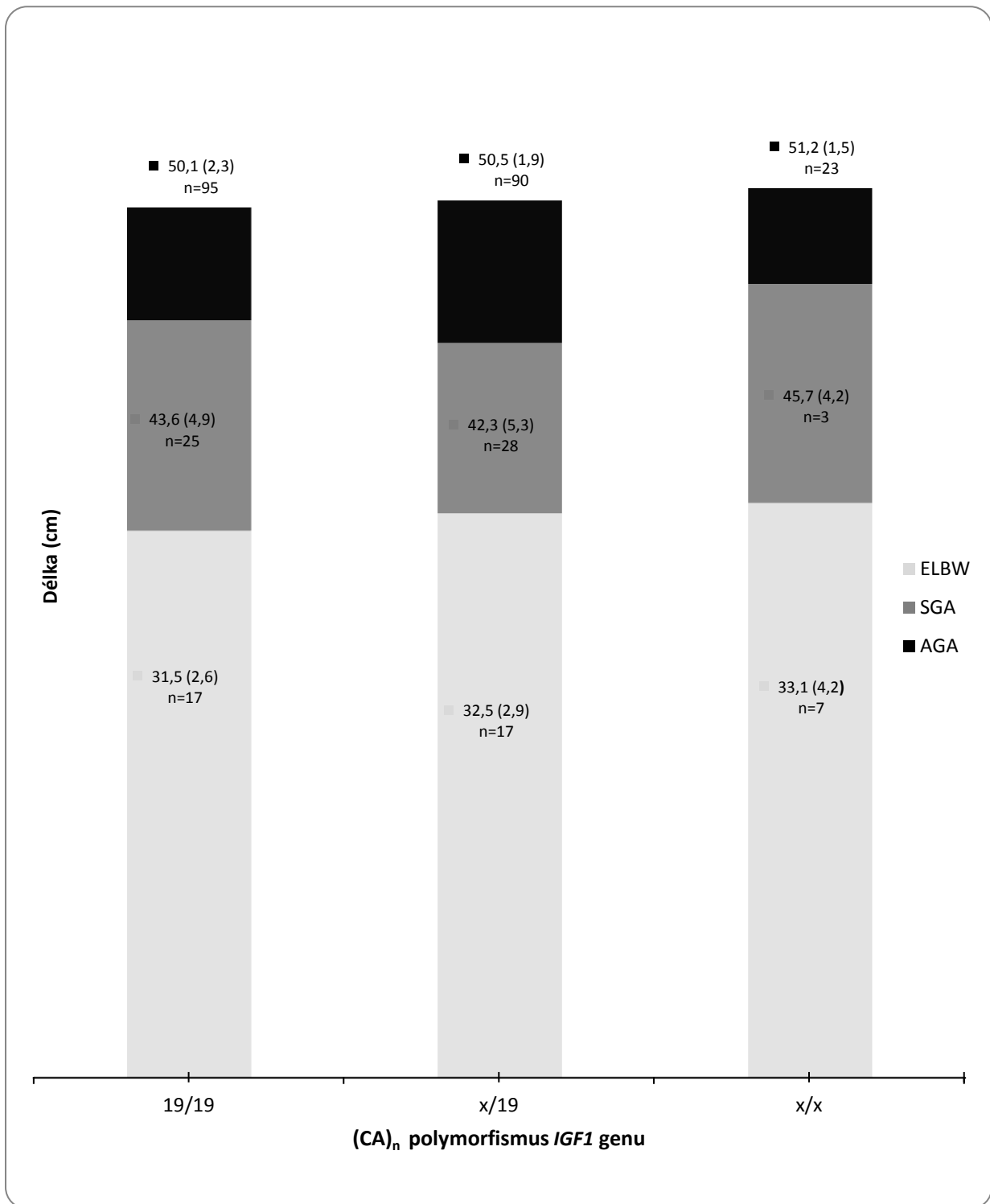
Ačkoliv děti z kontrolní skupiny (AGA), které byly homozygotními nositeli “wild-type” alely (CA)₁₉ v *IGF1* genu, měly porodní hmotnost a délku nižší než nositelé (CA)_{<19} nebo (CA)_{>19} na jedné nebo obou alelách (graf č. 4, 5), tyto rozdíly do 18 měsíců věku vymizely. U dětí ze skupiny SGA nebyl prokázán vztah mezi porodní váhou, délkou a repetitivním polymorfismem (CA)_n v promotoru *IGF1* genu.

Graf 4. Závislost porodní hmotnosti na polymorfismu cytosin-adenosin (CA)_n IGF1 genu



ELBW – novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností, SGA – novorozenci s hmotností/délkou nízkou vzhledem ke gestačnímu věku, AGA – novorozenci s hmotností/délkou přiměřenou vzhledem ke gestačnímu věku

Graf 5. Závislost porodní délky na polymorfismu cytosin-adenosin (CA)_n IGF1 genu



ELBW – novorozenci s extrémně nízkou porodní hmotností, SGA – novorozenci s hmotností/délkou nízkou vzhledem ke gestačnímu věku, AGA – novorozenci s hmotností/délkou přiměřenou vzhledem ke gestačnímu věku

SGA děti, které byly homozygotními nositeli alely (CA)₁₉, měly statisticky významně vyšší hladiny IGF-I a IGFBP-3 v pupečnickové krvi než nositelé delších či kratších alel na jedné nebo obou alelách ($P < 0,05$).

Ve skupině extrémně nezralých dětí se porodní hmotnost, délka ani ponderální index nelišily u dětí, které byly homozygotními nositeli „wild-type“ alely (CA)₁₉ v *IGF1* genu, významně se však lišila růstová rychlost v časném postnatálním období, tj. do 6 měsíců věku (homozygotní nositelé alely (CA)₁₉ měli významně vyšší růstové tempo ($P < 0,02$). V šesti měsících však měli homozygotní nositelé alely (CA)₁₉ signifikantně menší obvod hlavy ($P < 0,05$). Menší obvod hlavy u homozygotních nositelů alely (CA)₁₉ byl pozorován ještě ve 12 měsících věku ($P < 0,1$). Ve dvou letech však již nebyly pozorovány rozdíly mezi délkou, váhou, BMI ani obvodem hlavy mezi homozygotními nositeli alely (CA)₁₉ nositeli (CA)_{<19} nebo (CA)_{>19} na jedné nebo obou alelách. Hladiny IGFs a IGFBPs se ve skupině extrémně nezralých dětí nelišily mezi homozygotními nositeli „wild-type“ alely (CA)₁₉ a nositeli (CA)_{<19} nebo (CA)_{>19} na jedné nebo obou alelách v pupečnickové krvi, ani v dalších sledovaných věkových obdobích.

4.3.2.Repetitivní polymorfismus (CT)_n (PCR1; IGF1.PCR1; UniSTS 155246)

Distribuce repetitivního polymorfismu (CT)_n (PCR1; IGF1.PCR1; UniSTS 155246) v oblasti *IGF1* genu se statisticky významně lišila mezi skupinami dětí SGA/IUGR a extrémně nezralých dětí oproti kontrolní skupině (AGA) ($P < 0,05$). Ve skupině dětí s SGA/IUGR a extrémně nezralých dětí byl zjištěn vyšší výskyt variantních nositelů (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách (18,6%, resp. 18,9% oproti 7,7% u kontrol).

Distribuce polymorfismu ve skupině dětí SGA/IUGR, extrémně nezralých a dětí AGA (kontrolní skupina) je uveden v tabulce 6.

Tabulka 6. Distribuce repetitivního polymorfismu (CT)_n (PCR1; IGF1.PCR1; UniSTS**155246**

Skupina	Počet ve skupině	(CT) _n polymorfismus			Celkem
		17/17	17/x, x/17	x/x	
AGA	počet (n)	99	92	16	207
	%	47,8%	44,4%	7,7%	100%
SGA/IUGR	počet (n)	20	28	11	59
	%	33,9%	47,5%	18,6%	100%
NENPH	počet (n)	21	22	10	53
	%	39,6%	41,5%	18,9%	100%
Celkem	počet (n)	140	142	37	319
	%	43,9%	44,5%	11,6%	100%

AGA – donošení novorozenci s průměrnou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

17/17 - wild – type, tj. homozygotní nositelé (CT)₁₇,

X/17, 17/x – heterozygotní nositelé (CT)₁₇ na jedné alele a na druhé alele (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17}

X/X – variantní nositelé (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách

$$\chi^2 = 10,127 \quad P < 0,05$$

Ve skupině SGA dětí měli variantní nositelé (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách oproti nositelům wild – type (CT)₁₇ vyšší růstové tempo v období od narození do 6 měsíců, v dalším období již tento vztah vymizel. Nebyl prokázán žádný další statisticky významný vztah mezi antropometrickými parametry (délka, váha, obvod hlavy, ponderální index při narození, BMI) v průběhu sledovaného období. Homozygotní nositelé (CT)₁₇ měli signifikantně nižší hodnoty IGF-I v pupečnickové krvi oproti nositelům (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách (54,9 ng/ml, resp. 80,15 ng/ml, P < 0,05). Korelace tohoto polymorfismu s dalšími parametry systému IGFs a IGFbPs nebyla prokázána.

Ve skupině extrémně nezralých dětí nebyl zjištěn žádný statisticky významný vztah mezi antropometrickými parametry (délkou, růstovou rychlostí, hmotností, obvodem hlavy, ponderálním indexem při narození, BMI) a polymorfismem (CT)_n ve druhém intronu *IGF1* genu, homozygotní nositelé (CT)₁₇ měli nižší porodní délku než děti s (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách (31,4 cm, resp. 34,3 cm, P < 0,1). Závislost hladin systému IGFs a IGFBPs na výskytu tohoto polymorfismu jsme nepotvrdili.

Nepodařilo se prokázat žádný statisticky významný vztah studovaných polymorfismů a antropometrických parametrů (délky, růstové rychlosti, hmotnosti, obvodu hlavy, ponderálního indexu při narození, BMI) ani hladin systému IGFs a IGFBPs.

4.3.3. Mikrosatelitní marker D12S318 - (CA) repetitivní polymorfismus v 3'UTR oblasti

***IGF1* genu**

Distribuce polymorfismu D12S318 u dětí SGA/IUGR, extrémně nezralých a AGA (kontrolní skupiny) se v jednotlivých skupinách nelišila. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7. Distribuce mikrosatelitního markeru D12S318 - (CA) repetitivního polymorfismu v 3'UTR oblasti IGF1 genu

Skupina	Počet ve skupině	D12S318			Celkem
		24/24	24/x, x/24	x/x	
AGA	počet (n)	69	85	53	207
	%	33,3%	41,1%	25,6%	100%
SGA/IUGR	počet (n)	22	25	12	59
	%	37,3%	42,4%	20,3%	100%
NENPH	počet (n)	12	27	14	53
	%	22,6%	50,9%	26,4%	100%
Celkem	počet (n)	103	137	79	319
	%	32,3%	42,9%	24,8%	100%

AGA – donošení novorozenci s přiměřenou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

24/24 - wild – type, tj. homozygotní nositelé (CA)₂₄,

X/24, 24/x – heterozygotní nositelé (CA)₂₄ na jedné alele a na druhé alele (CT)_{<24} nebo (CT)_{>24}

X/X – variantní nositelé (CT)_{<24} nebo (CT)_{>24} na obou alelách

$$\chi^2 = 3,603 \quad P > 0,05$$

U dětí SGA/IUGR nebyl prokázán vztah antropometrických parametrů při narození a mikrosatelitního markeru D12S318. Pouze u dětí, které byly nositeli homozygotní formy (CA)₂₄ (wild-type), byl zjištěn ve 12 měsících menší obvod hlavy než v ostatních skupinách ($P < 0,05$). Ostatní antropometrické parametry se ani ve věku 6,12 a 24 měsíců nelišily v závislosti na tomto polymorfismu. Homozygotní nosiči měli významně nižší hladiny IGF-I v šesti a dvanácti měsících ($P < 0,05$), hladiny však nebyly odlišné v pupečnickové krvi. Ostatní parametry IGFs a IGFBPs nebyly signifikantně závislé na počtu repeatů v uvedeném polymorfismu.

U dětí extrémně nezralých nebyl prokázán vztah mezi výskytem repetitivních sekvencí v polymorfismu D12S318 a antropometrickými parametry po celé sledované období (tj. při narození, v 6 měsících, ve 12 měsících a 24 měsících), stejně tak nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v hladinách IGFs a IGFBPs.

U dětí s přiměřenou porodní hmotností a délkou nebyl prokázán vztah mezi výskytem repetitivních sekvencí v polymorfismu D12S318 a antropometrickými parametry po celé sledované období (tj. při narození, v 6 měsících, ve 12 měsících a 24 měsících), stejně tak nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v hladinách IGFs a IGFbPs.

4.3.4. (CA) repetitivní polymorfismus v intronu 2 (alela 216) a (CA) repetitivní polymorfismus v 3'UTR nekodující oblasti (185 bp) *IGF1* genu

Distribuce polymorfismů byla obdobná u všech skupin dětí, tj. u dětí SGA/IUGR, extrémně nezralých i dětí z kontrolní skupiny. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 8 a 9.

Tabulka 8. Distribuce (CA) repetitivního polymorfismu v druhém intronu (alela 216)

Skupina	Počet ve skupině	Intron 2 (alela 216)				Celkem
		x/21 21/x	x/22 22/x	21/21 21/22 22/22	x/x	
AGA	počet (n)	65	33	74	35	207
	%	31,4%	15,9%	35,7%	16,9%	100%
SGA/IUGR	počet (n)	20	12	16	11	59
	%	33,9%	20,3%	27,1%	18,6%	100%
NENPH	počet (n)	14	12	12	15	53
	%	26,4%	22,6%	22,6%	28,3%	100%
Celkem	počet (n)	99	57	102	61	319
	%	31,0%	17,9%	32,0%	19,1%	100%

AGA – donošení novorozenci s přiměřenou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

X – alela s (CA)_{>22} (CA)_{<21}

Tabulka 9. Distribuce (CA) repetitivního polymorfismu v 3'UTR nekodující oblasti (185 bp)

Skupina	Počet ve skupině	(CA) repetitivní polymorfismus v 3'UTR oblasti (185 bp)				Celkem
		x/16 16/x	x/17 17/x	16/16 16/17 17/17	x/x	
AGA	počet (n)	51	27	111	17	206
	%	24,8%	13,1%	53,9%	8,3%	100%
SGA/IUGR	počet (n)	27	6	20	6	59
	%	45,8%	10,2%	33,9%	10,2%	100%
NENPH	počet (n)	19	8	22	4	53
	%	35,8%	15,1%	41,5%	7,5%	100%
Celkem	počet (n)	97	41	153	27	318
	%	30,5%	12,9%	48,1%	8,5%	100%

AGA – donošení novorozenci s přiměřenou hmotností, SGA/IUGR – novorozenci s nízkou hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a s intrauterinní růstovou retardací, NENPH – novorozenci s extrémně nízkou hmotností

$$\chi^2 = 12,425 \quad \text{s.v.} = 6 \quad p = 0,053$$

X – alela s (CA)_{>17} (CA)_{<16}

5. DISKUZE

5.1. Dlouhodobé přežití a výskyt závažných morbidit extrémně nezralých novorozenců

Životaschopnost předčasně narozeného dítěte je dána nejen biologickými, ale i ekonomickými a kulturními faktory a technologickým pokrokem. Míra přežití i budoucí dlouhodobé komorbidity mohou být ovlivněny i rozdílnými přístupy v jednotlivých perinatologických centrech (Håkansson S et al., 2004, Vohr BR et al., 2004, Jarjour IT, 2015). Byly publikovány studie, které hodnotily míru přežití extrémně nezralých dětí ve vztahu ke gestačnímu týdnu (Tommiska V et al., 2007, Tyson JE et al., 2008, Field DJ et al., 2008), v některých studiích byly děti sledovány po dobu 12- 20 měsíců (Rijken M et al., 2003, Fily A et al., 2006, Riley K et al., 2008). Jen v několika studiích byl posuzován vývoj a komorbidity ve věku 5-11 let (Doyle LW, 2001, Hoekstra RE et al., 2004, Marlow N et al., 2005, Mikkola K et al., 2005, Herber-Jonat S et al., 2014). V našem souboru dětí narozených ve 22. – 24+6 týdnu gravidity byla míra přežití 76%. V předchozích publikovaných souborech se míra přežití pohybovala od 42% do 79%, přičemž ve 22. týdnu byla 0-71%, ve 23. týdnu 0-66%, ve 24. týdnu 26-90% a ve 25. týdnu 52-85% (Costeloe K et al., 2000, El-Metwally D et al., 2000, Chan K et al., 2001, Doyle LW, 2001, Møhlholm Hansen B, Greisen G, 2003, Vanhaesebrouck P et al., 2004, Hoekstra RE et al., 2004, Markestad T et al., 2005, Marlow N et al., 2005, Lui K et al., 2006, Tyson JE et al., 2008, Riley K et al., 2008, Field DJ et al., 2009, Itabashi K et al., 2009). Z publikovaných studií vyplývá, že se míra přežití významně zlepšuje s každým dokončeným gestačním týdnem. Také v našem souboru dětí jsme pozorovali významný rozdíl mezi dětmi narozenými mezi 22.- 24. týdnem a po 24. týdnu gravidity. Z 11 léčených dětí, které se narodily ve 22. týdnu gravidity, přežilo 64% do věku 5 let. Všechny děti byly vyšetřeny ve dvou letech a šest z nich i v pěti letech (zdravotní údaje jednoho chlapce byly získány od praktického lékaře). Čtyři děti v této skupině (57%) neměly závažné důsledky nezralosti. V publikovaných čtyřech studiích, ve kterých byly děti sledovány po dobu čtyř až šesti let (Doyle LW, 2001, Hoekstra RE et al., 2004, Marlow N et al., 2005, Mikkola K et al., 2005) byly sledovány pouze tři děti narozené ve 22. týdnu. Ve studii EPICure jedno ze dvou dětí nemělo závažné následky (Marlow N et al., 2005). Mikkola se spolupracovníky popsali pouze jedno dítě, které se dožilo pěti let bez závažných následků (Mikkola K et al., 2005). V naší studii ze 14 dětí narozených ve 23. týdnu gravidity nemělo závažné následky 45%, což je ve shodě s literárními údaji (25- 66%) (Doyle LW, 2001, Hoekstra RE et al., 2004, Marlow N et al., 2005, Mikkola K et al., 2005). Z 28 dětí narozených ve 24. týdnu nemělo závažné komorbidity 89%, ze 47 dětí z 25. týdne bylo 79% bez závažných následků. I tato

zkušenost je ve shodě s pozorováním z jiných pracovišť (Doyle LW, 2001, Hoekstra RE et al., 2004, Mikkola K et al., 2005). Prognóza dětí, které se narodily po 24. týdnu gravidity, se významně nelišila. Za „šedou zónu“, kdy je nutné pečlivě zvažovat indikaci zahájení resuscitace a intenzivní péče, je nutné považovat 22. – 24. týden gravidity.

5.2. Antropometrické parametry dětí extrémně nezralých

Prenatální i postnatální růst je dán genetickým pozadím, včetně změn hladin IGF-I ovlivněných např. i polymorfismy *IGF1* genu, a faktory zevního prostředí, např. prenatální výživou matky i výživou dítěte po narození (Orbak Z et al., 2001, Rietveld I et al., 2003, Sices L et al., 2007, Verkauskiene R et al., 2007, Kytarová J et al., 2009, Imdad A, Bhutta ZA, 2011, Ong KK et al., 2015). Předčasně narozené děti mají ve srovnání s donošenými dětmi zvýšené riziko postnatální růstové poruchy a nízké finální výšky v dospělosti (Garcia RA et al., 2009). Kromě toho, děti, které se narodí s SGA nebo s IUGR, mají zvýšené riziko rozvoje inzulinorezistence, diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulárních chorob v dospělosti. Zdá se, že nejvíce ohroženou skupinou jsou děti, které nemají postnatální „catch-up“ růst nebo děti, které v časném kojeneckém období naopak rychle přibývají na váze (Ibáñez L et al., 2006, Ezzahir N et al., 2006, Roggero P et al., 2011, Ong KK et al., 2015). Postupné změny životního stylu a výživy se mohou podílet na nalezených rozdílech předchozích antropometrických studií u dětí v závislosti na desetiletí, ve kterém se sledované děti narodily. Změny prostředí mohly ovlivnit i hladiny IGF-I (Velde SJ et al., 2005, Landman E et al., 2006, Ester WA, Hokken-Koelega AC, 2008). Časný postnatální růst extrémně nezralých novorozenců v průběhu prvních dvou let života je obtížně srovnatelný v rámci publikovaných dat, protože ve většině předchozích studií byly děti do studie zařazovány výlučně na základě porodní hmotnosti a nikoliv délky gestace. Do studií byly zařazovány i děti, které se narodily v pozdějším gestačním týdnu s SGA/IUGR. Stejně důležitým parametrem pro dlouhodobé sledování nezralých dětí je i poměr váhy k délce/výšce nebo index tělesné proporcionality (ponderální index, PI) (Olsen IE et al., 2009). Výsledky naší studie ve shodě se zkušenostmi Wooda a kol. (Wood NS et al., 2003) ukázaly, že extrémně nezralé děti, narozené před 28. gestačním týdnem zůstávají ve věku 5 let menší než jejich vrstevníci. Současně extrémně nezralé děti, které se narodily před 26. gestačním týdnem, jsou v pěti letech menší a štíhlejší než děti, které se narodily mezi 26. a 28. týdnem života. Obvod hlavy (OH) zůstává u extrémně nezralých dětí v průběhu prvních pěti let života menší ve srovnání s referenční

populací (Peterson J et al., 2006, Sommer C et al., 2007, Cheon JL et al., 2008).

V naší studii byla mikrocefalie (definovaná jako OH menší než $-2SDS$) zjištěna u téměř 15% dětí, které se narodily jako extrémně nezralé. Naše výsledky jsou porovnatelné s ostatními studii. Kuban a kol. sice zjistil mikrocefalii pouze u 10% dětí narozených před 28. gestačním týdnem (Kuban KC et al., 2009), ale v dalších studiích byla mikrocefalie prokázána u 19–29% (Cheon JL et al., 2008, Sommer C et al., 2007). Rozdíly by mohly být částečně vysvětleny odlišně definovanými soubory dětí i rozdílnou definicí mikrocefalie. Dlouhodobé sledování obvodu hlavy je velmi důležité, protože menší obvod hlavy by mohl být spojen se sníženými kognitivními funkcemi (Wood NS et al., 2003, Peterson J et al., 2006). Postnatální „catch – up“ růst OH, vyjádřený jako úprava SDS v průběhu prvních dvou let života, byl popsán i u dětí, které nevykazovaly postnatální růstové zrychlení v délce a hmotnostních přírůstcích (Cockerill J et al., 2006). U dětí našeho souboru jsme pozorovali v obou skupinách dětí pokles růstového tempa OH mezi druhým a pátým rokem života ve srovnání s referenční populací. Tento pokles byl spojen s vyšším počtem dětí s mikrocefalií ve věku pěti let. Obdobný vývoj růstového tempa OH byl zjištěn u nezralých dětí ve věku 2, 5 a 6 let i v multicentrické EPICure studii (Bracewell MA et al., 2008).

Centrální distribuce tuku je spojena se zvýšeným rizikem inzulinorezistence a CDV v dospělosti. Změna distribuce tuku u dětí, které se narodily extrémně nezralé, může být pojičkem se zvýšeným rizikem DM 2 a CDV (Jacquet D et al., 2005). Pomocí MRI bylo zjištěno, že extrémně nezralé děti, které dosáhnou gestačního věku 40 týdnů, mají celkové množství tuku obdobné jako novorozenci, kteří se narodili v očekávaném termínu, mají však vyšší podíl intraabdominálního tuku (Ulthaya S et al., 2005). Obvod pasu je jedním z nepřímých a dostupných ukazatelů rizika metabolického syndromu u dospělých. Korelace mezi obvodem pasu a množstvím intraabdominálního tuku zjištěná pomocí duální rentgenové absorpciometrie (DEXA) u předškolních dětí ukázala, že měření obvodu pasu je vhodnou metodou i v dětském věku (Tailor RW et al., 2008). V naší studii se průměrný obvod pasu významně nelišil v obou skupinách sledovaných dětí, ale referenční data pro českou populaci nejsou dostupná. V porovnání s výsledky Roswalla (Roswall J et al., 2009) byly průměry obvodu pasů nižší než u stejně starých zdravých švédských dětí (53,2 – 54 cm). Nepozorovali jsme žádné statisticky významné rozdíly v dalších nepřímých parametrech rozložení tělesného tuku (tělesné obvody, tloušťka kožních řas) mezi pětiletými dětmi, které se narodily mezi 22. a 25+6. gestačním týdnem a dětmi z 26. – 27+6. gestačního týdne. Nepřímé metody, které

jsme používali v naší studii, však nemusely být na rozdíl od MRI dostatečně přesné, aby odhalily případné rozdíly v distribuci tuku.

5.3. Polymorfismy IGF1 genu a jejich dopad na prenatální a postnatální růst

Děti SGA a IUGR mají v dospělosti zvýšené riziko rozvoje inzulinorezistence, DM2 a CDV. Zdá se, že nejohroženější skupinou jsou děti bez postnatálního růstového výšvihu nebo naopak ty, které po narození velmi rychle přibývají na váze. Vysvětlením by mohlo být genetické pozadí, změny hladin IGF-I a inzulinové sensitivity (Leen MH et al., 2004). Studie na zvířecím modelu („knock-outované“ myši) ukázaly vliv hladin IGF-I na pre- i postnatální růst (Liu JP et al., 1993).

Byly popsány dvě kasuistiky dětí s homozygotní delecí IGF-I genu. Obě děti měly IUGR a postnatální růstové selhání, současně měly psychomotorickou retardaci a vadu sluchu (Woods KA et al., 1999, Bonapace G et al., 2003).

Repetitivní polymorfismus s variabilním počtem $(CA)_n$ v promotoru *IGF1* genu by mohl ovlivňovat postnatální vývoj antropometrických parametrů (Landman E et al., 2006). Většina studií, které v minulosti sledovaly vliv tohoto polymorfismu na porodní hmotnost a délku, probíhala v kohortách dospělých a antropometrická data při narození byla získávána retrospektivně (Frayling TM et al., 2002, Vaessen N et al., 2002; Velde SJ et al., 2005, Ester WA, Hokken-Koelega AC, 2008). Vliv $(CA)_n$ repetitivního polymorfismu na lineární růst v pre – a časném postnatálním období zůstává nejasný. Výsledky několika předchozích studií byly kontroverzní (Vaessen N et al., 2002, Velde SJ et al., 2005, Landman E et al., 2006, Ester WA, Hokken-Koelega AC, 2008). Například v holandském souboru dospělých výskyt tohoto polymorfismu významně koreloval s antropometrickými parametry při narození a variantní nositelé měli nižší porodní hmotnost (Vaessen N et al., 2002; Velde SJ et al., 2005).

Geelhoed et al studovali vztah $(CA)_n$ repetitivního polymorfismu vzhledem k prenatálnímu a postnatálnímu růstu. Fetální růst (OH, obvod pasu, délka femuru, odhad hmotnosti) byl zjišťován v průběhu těhotenství opakovaným sonografickým měřením. Mezi homozygotními nositeli wild type alely $(CA)_{19}$ a variantními nositeli nebyly sice zjištěny rozdíly v porodní hmotnosti, nositelé variantního počtu $(CA)_{19}$ však měli nižší délku i odhadovanou hmotnost zjištěnou sonografickým měřením v polovině těhotenství. Tyto rozdíly díky zvýšenému růstovému tempu v druhé polovině gravidity vymizely (Geelhoed JJ et al., 2008). Ani

v dalších studiích z Velké Británie (Frayling TM et al., 2002) a Německa (Landman E et al., 2006) nebyla korelace mezi polymorfismem $(CA)_n$ a porodní hmotností a délkou potvrzena. V publikovaných studiích se významně lišila dekáda narození sledovaných subjektů. Rozdíly ve výsledcích mohou být částečně vysvětleny postupnými změnami životního stylu a výživy v posledních 50 letech v různých populačních skupinách, které mohly ovlivnit hladiny IGF-I. Epigenetické faktory mohly také do značné míry zmírnit či dokonce překonat vliv dědičnosti. V naší skupině donošených AGA dětí slovanského původu měli homozygotní nositelé wild-type alely $(CA)_{19}$ porodní hmotnost a délku nižší v porovnání s variálními nositeli, tyto rozdíly ale vymizely do 18 měsíců věku. Nezjistili jsme žádné rozdíly v antropometrických parametrech mezi skupinami SGA dětí při narození, ve věku 12 měsíců a dvou letech. Ve skupině extrémně nezralých dětí nebyly rovněž zjištěny rozdíly v antropometrických parametrech při narození a ve dvou letech. Hladiny IGF-I mohou být suboptimální u heterozygotů nesoucích snížení či zvýšený počet $(CA)_n$ v *IGF1* genu bez ohledu na rozdílný počet chybějících $(CA)_{<19}$ nebo zmnožených $(CA)_{>19}$ repeticí (Rietveld I et al., 2004). V našem souboru pouze SGA děti, které byly homozygotními nositeli alely $(CA)_{19}$, měly statisticky významně vyšší hladiny IGF-I a IGFBP-3 z pupečnickové krve než nositelé alel delších či kratších alespoň na jedné alele. Ve skupině AGA a extrémně nezralých dětí signifikantní vztah mezi hladinami IGF-I a IGFBP3 potvrzen nebyl.

Repetitivní polymorfismus $(CT)_n$ (PCR1; IGF1.PCR1) je jedním z dalších polymorfismů, který je spojován s nedostatečným pre- a postnatálním růstem, nízkými hladinami IGF-I a možným rizikem rozvoje diabetu a CDV. Arends se spolupracovníky zjistili, že SGA děti s postnatálním růstovým selháním jsou častěji nositeli polymorfismu 191-bp. Současně měli nositelé 191-bp alely signifikantně menší obvod hlavy a nižší hladiny IGF-I než nositelé variantní (Arends N et al., 2002). Ve studii Johnstona byl studován výskyt repetitivního polymorfismu $(CT)_n$ ve 2 různých populacích SGA dětí a v kontrolní skupině zdravých dětí. V této studii byl nejčastějším genotypem polymorfismus 189/189 bp, který byl u SGA dětí spojen s nižšími hladinami IGF-I. V kontrolní skupině však tento vztah genotypu a nižších hladin IGF-I prokázán nebyl (Johnston LB et al., 2003). V našem souboru se distribuce repetitivního polymorfismu $(CT)_n$ (PCR1, IGF1.PCR1) ve druhém intronu *IGF1* genu statisticky významně lišila mezi skupinami dětí SGA/IUGR a extrémně nezralých oproti kontrolní skupině (AGA), přičemž u SGA/IUGR a extrémně nezralých dětí byl zjištěn vyšší výskyt variantních nositelů $(CT)_{<17}$ nebo $(CT)_{>17}$ na obou alelách. U dětí s SGA/IUGR měli variální nositelé $(CT)_{<17}$ nebo $(CT)_{>17}$ na obou alelách oproti nositelům wild – type $(CT)_{17}$

vyšší růstové tempo od narození do 6 měsíců, v dalším období již tento vztah nebyl prokázán. Nebyl prokázán ani statisticky významný vztah mezi antropometrickými parametry (délka, váha, obvod hlavy, ponderální index při narození, BMI).

Ve skupině extrémně nezralých dětí měli homozygotní nositelé (CT)₁₇ nižší porodní délku než nositelé (CT)_{<17} nebo (CT)_{>17} na obou alelách, jiné statisticky významné vztahy mezi antropometrickými parametry (délkou, růstovou rychlostí, hmotností, obvodem hlavy, ponderálním indexem při narození, BMI) a polymorfismem (CT)_n ve druhém intronu *IGF1* genu nebyly potvrzeny. Ani v kontrolní skupině (AGA) se nepodařilo prokázat žádný statisticky významný vztah mezi polymorfismem (CT)_n a antropometrickými parametry (délkou, růstovou rychlostí, hmotností, obvodem hlavy, ponderálním indexem při narození, BMI).

Ve shodě s dostupnými prameny nebyl u SGA/IUGR dětí prokázán vztah mezi antropometrickými parametry při narození a přítomností mikrosatelitního markeru D12S318 (Arends N, Johnston L, 2002, Johnston LB et al., 2003). Pouze u SGA/IUGR dětí, které byly nositeli homozygotní formy (CA)₂₄ (wild-type), byl zjištěn ve 12 měsících menší obvod hlavy, ostatní antropometrické parametry se ani ve věku 6, 12 a 24 měsíců nelišily v závislosti na polymorfismu. Homozygotní nositelé měli významně nižší hladiny IGF-I v šesti a dvanácti měsících. U dětí extrémně nezralých nebyl prokázán vztah mezi výskytem repetitivních sekvencí polymorfismu (CA) repetitivního polymorfismu v 3'UTR oblasti *IGF1* genu a antropometrickými parametry po celé sledované období (tj. při narození, v 6, 12 a 24 měsících). Rovněž u dětí s průměrnou porodní hmotností a délkou nebyl prokázán vztah mezi výskytem repetitivních sekvencí (CA) repetitivního polymorfismu v 3'UTR oblasti a antropometrickými parametry po celé sledované období.

6. ZÁVĚRY A PRAKTICKÉ DOPADY STUDIE

Prognóza dětí, které se narodily po 24. gestačním týdnu, se významně nelišila. „Šedou zónu“, kdy je potřeba individuálně zvažovat intenzivní péči a resuscitaci, je v současné době vhodné omezit na 22. - 24. týden. Naše výsledky byly shodné s výsledky dalších studií z posledních let. Původně extrémně nezralé děti zůstávají v pěti letech významně nižší než vrstevníci. Mezi druhým a pátým rokem života byla u původně extrémně nezralých dětí zjištěna nižší dynamika růstu obvodu hlavy a mikrocefalie byla prokázána u 14,6% dětí.

Zdá se, že polymorfismy *IGF1* genu mohou ovlivňovat prenatální růst AGA dětí, absence signifikantních rozdílů u SGA a IUGR dětí v naší studii může poukazovat na silný vliv zevního prostředí i epigenetických faktorů zejména na postnatální růst.

Vzhledem k tomu, že extrémně nezralé děti i děti narozené SGA nebo s IUGR, mají riziko postnatálního růstového selhání, mělo by tedy být nezbytnou součástí postnatálního sledování těchto dětí i standardizované antropometrické sledování nejen samotné délky/výšky a hmotnosti, ale i poměru hmotnosti k délce/výšce. Tyto děti jsou také ve zvýšené míře ohrožené rozvojem DM 2 a CVD v dospělosti. Předpokládá se, že jestliže bude zabráněno nadměrným hmotnostním přírůstkům v časném kojeneckém období, sníží se riziko kardiovaskulárních chorob v dospělosti. Časná postnatální výživa by tedy měla být vedena tak, aby byly zajištěny pokud možno adekvátní hmotnostní přírůstky v závislosti na úrovni postnatálního nárůstu délky dítěte. V případě postnatálního růstového selhání je indikované včasné zahájení léčby růstovým hormonem.

7. SEZNAM PUBLIKACÍ

1. publikace, které jsou podkladem disertace

a) s impakt faktorem

1. Kytnarová J., Veselá K, Zlatohlávková B, Dohnalová A, Fedorová M, Kršek M and Zeman J. Cytosine-Adenosine (CA)_n repeats polymorphism in IGF-I gene and early growth in infants born appropriate and small for gestational age. **Neuro Endocrinol Lett.** 2009;30(4):501-5. **IF: 1,359**
2. Kytnarová J., Zlatohlávková B., Kuběna A., Marková D., Dokoupilová M., Plavka R. and Zeman J. Postnatal growth of 157 children born as extremely premature neonates. **J Paediatr Child Health.** 2011 Mar;47(3):111-6. **IF: 1,124**
3. B Zlatohlávková, J Kytnarová, A Kuběna, A Fleischnerová, M Dokoupilová, R Plavka. Five-year survival without major disability in actively treated extremely premature infants: A comparison of children born at the threshold of viability at 22 to 25 weeks to children born at 26 to 27 weeks of gestation (title). **Acta Paediatr.** 2010 Nov;99(11):1618-23. **IF: 1,517**

b) bez impakt faktoru

1. Kytnarová J., Zlatohlávková B., Fedorová M., Malošková G., Kršek M.: Intrauterinní růstová retardace a fetální původ chorob v dospělosti. **Čes.-slov. Pediatrie.**, 2008; 63, 6, s. 320-326
2. Fedorová M., Zlatohlávková B., Kytnarová J., Malošková G., Kršek M., Plavka R. Intrauterinní růstová retardace a její vliv na další vývoj extrémně nezralých novorozenců. **Čes.-slov. Pediatrie.**, 2009; 64, 6, s.359-364
3. Prospektivní studie faktorů ovlivňující postnatální růst a představující riziko některých chorob v dospělosti u dětí narozených s nízkou porodní hmotností vzhledem ke gestačnímu věku a dětí s velmi nízkou porodní hmotností. IGA NR 9374-3. Kršek M., Kytnarová J. Závěrečná zpráva.
4. Kytnarová J., Aldhoon Hainerová I, Boženský J, Divoká J, Plášilová I, Pařízková J, Pastucha D, Procházka B, Tláskal P, Zamrazilová H. Obezita u dětí Standardy léčebných postupů a kvalita ve zdravotní péči nakladatelství Verlag Dashöfer, 2011

5. Kytnarová J, Aldhoon Hainerová I, Zamrazilová H a kol. Obezita v dětském věku. 2013. Vydal Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví. ISBN 978-80-87023-17-4.
6. Marková D, Weberová-Chvílová M, Raušová R, Kněžů E, Klement P, Korsová B, Příhodová I, Košťálová E, Kredba V, Langer J, Fruhauf P, Kytnarová J, Koťátko P, Šulc J, Vepřeková L, Uhlíková P, Jánská P, Vyhnaněk R, Zlatohlávková B, Fleishnerová A, Ptáček R, Mirovská D, Smolíková L, Haškovcová E, Mercelová J, Kunzmanová R, Zeman J. Péče o předčasně narozené dítě: Kdy začíná a kdy končí? Neonatologické listy, 2012, roč. 18, 2, s. 7-10.

2. publikace bez přímého vztahu k tématu disertace

a) s impakt faktorem

1. Rozenkova K, Malikova J, Nessa A, Dusatkova L, Bjorkhaug L, Obermannova B, Dusatkova P, Kytnarova J, Aukrust I, Najmi LA, Rypackova B, Sumnik Z, Lebl J, Njolstad PR, Hussain K, Pruhova S. High Incidence of Heterozygous ABCC8 and HNF1A Mutations in Czech Patients With Congenital Hyperinsulinism. **J Clin Endocrinol Metab.** 2015; Dec, 100 (12): E1540-9, doi: 10.1210/jc.2015-2763. Epub 2015 Oct2. **IF: 6,209**
2. Jandová A, Pokorný J, Pokorný J, Kobilková J, Nedbalová M, Čoček A, Jelínek F, Vrba J, Vrba J Jr, Dohnalová A, Kytnarová J, Tuszyński JA, Foletti A. Diseases caused by defect of energy level and loss of coherence in living cells. **Electromagn Biol Med.** 2015; 34(2): 151-5. **IF: 1,194**

b) bez impakt faktorů

1. Ondrušková N, Honzík T, Kytnarová J, Matoulek M, Zeman J, Hansíková H. Isoelectric Focusing of Serum Apolipoprotein C-III as a Sensitive Screening Method for the Detection of O-glycosylation Disturbances. **Prague Med Rep.** 2015;116(2):73-86.
2. Bajová S, Kytnarová J, Baxová A, Kočvara R, Zlatohlávková B, Paslerová R, Plavka R. Máme dceru..., nebo ne? Syndrom necitlivosti na androgeny. **Pediatr. praxi** 2014; 15(2): 83–85

3. Eva Flachsová: Jitka Kytnarová, Jana Ledvinová, Helena Poupětová, Eduard Kočárek, Věra Malinová, Jiří Zeman: Porucha růstu a vývoje u chlapce s X-vázanou ichtyózou, protražovaným porodem a nízkou hladinou estriolu u matky v průběhu těhotenství, **Čes-slov. Pediatrie**, 2009, roč. 64, 3, s. 120 – 125.

8. POUŽITÁ LITERATURA

Allen NE, Appleby PN, et al. Lifestyle determinants of serum insulin-like growth-factor- I (IGF-I), C-peptide and hormone binding protein levels in British women. *Cancer Causes Control* 2003 Feb; 14(1): 65-74

Ambalavanan N, Carlo WA, et al. Generic Database; Subcommittees of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Outcome trajectories in extremely preterm infants. *Pediatrics* 2012 Jul; 130(1):e115-25. Epub 2012 Jun11.

Ancel PY, Goffinet F., EPIPAGE-2 Writing Group et al. Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks' gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study. *Jama Pediatr* 2015, Mar; 169 (3): 230-8

Arends N, Johnston L, et al. Polymorphism in the IGF-I gene: clinical relevance for short children born small for gestational age (SGA). *J. Clin Endocr Metab* 2002; 87: 2720-2724

Baker J, Liu JP, et al. Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 1993 Oct 8; 75(1): 73-82

Barker DJP, Eriksoon JG, et al. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol* 2002; 31 (6): 1235-1239

Barker DJP. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ* 1995; 311: 171-4

Bonapace, G., Concolino, D., et al. A novel mutation in a patient with insulin-like growth factor 1 (IGF1) deficiency. (Letter) *J. Med. Genet* 2003; 40: 913-917

Bracewell MA, Hennessy EM, et al. The EPICure study: growth and blood pressure at 6 years of age following extremely preterm birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2008; 93: F108-F114.

Breton C, Lukaszewski MA, et al. Maternal prenatal undernutrition alters the response of POMC neurons to energy status variation in adult male rat offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(3): E462-472.

Burkhardt T, Matter CM, et al. Decreased umbilical artery compliance and igf-I plasma levels in infants with intrauterine growth restriction - implications for fetal programming of hypertension. *Placenta* 2009 Feb; 30(2): 136-41

Camacho-Hubner C, Woods KA, et al. Insuline-like growth factor (IGF)-I gene deletion. *Rev Endocr Metab Disord* 2002 Dec; 3 (4): 357-61

Cianfarani S., Germani D., et al. Low birth weight and adult insulin resistance: „the catch-up growth“ hypothesis. *Arch Dis Child* 1999; 81: F71-F73

Clemmons Dr. Role of insulin-like growth factor iin maintaining normal glucose homeostasis. *Horm Res* 2004; 62 Suppl 1: 77-82

Cockerill J, Ulthaya S, et al. Accerelated postnatal growth follows preterm birth. *Arch Dis*

Child Fetal Neonatal Ed 2006; 91: F184-F187

Costeloe K, Hennessy E, et al. The EPICure Study: Outcomes to discharge from hospital for infants born at the threshold of viability. *Pediatrics* 2000; 106: 659–671

Doyle L W, Faber B, Callanan C et al. Extremely low birth weight and body size in early adulthood. *Arch Dis Child* 2004; 89: 347-350

Doyle LW, for the Victorian Infant Collaborative Study Group. Outcome at 5 years of age of children 23 to 27 weeks' gestation: Refining the prognosis. *Pediatrics* 2001; 108: 134–141

Einstein F, Thompson RF, et al. Cytosine methylation dysregulation in neonates following intrauterine growth restriction. *PLoS One* 2010; 5:e8887

El-Metwally D, Vohr B, et al. Survival and neonatal morbidity at the limits of viability in the mid 1990s: 22 to 25 weeks. *J Pediatr* 2000; 137: 616–622

Ester WA, Hokken-Koelega AC. Polymorphisms in the IGFI and IGFI R genes and children born small for gestational age: results of large population studies. *Best Pract Res Clinl Endocrinol Metab* 2008; 22 (3): 415-431

Euser AM, de Wit CC, et al. Growth of preterm born children. *Horm Res* 2008; 70(6): 319-28

Evensen KA., Steinshamn S, et al. Effects of preterm birth and fetal growth retardation on cardiovascular risk factors in young adulthood. *Early Hum Dev* 2009; 85 (4): 239-245

Ezzahir N, Alberti C, et al. Time course of catch-up in adiposity influences adult anthropometry in individuals who were born small for gestational age. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91 (6): 2153-8

Fehringer G, Ozcelik H, et al. Association between IG1 CA microsatellites and mammographic density, anthropometric measures, and circulating IGF-I levels in premenopausal Caucasian women. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 116 (2): 413-23. E publ. 2008

Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr* 2013; 13, 59.

Field DJ, Dorling JS, et al. Survival of extremely premature babies in geographically defined population: prospective cohort study of 1994-9 compared with 2000-5. *BMJ* 2008; 336: 1221–1223

Fily A, Pierrat V, et al. EPIPAGE Nord-Pas-de-Calais Study Group. Factors associated with neurodevelopmental outcome at 2 years after very preterm birth: the population-based Nord-Pas-de-Calais EPIPAGE cohort. *Pediatrics* 2006; 117: 357–366

Frayling TM., Hattersley AT, et al. (2002). A Putative Functional Polymorphism in the IGF-I Gene. Association Studies With Type 2 Diabetes, Adult Height, Glucose Tolerance, and Fetal Growth in U.K. Populations. *Diabetes* 2002; 51: 2313 -2316

- Garcia RA, Longui CA, et al. First two years' response to growth hormone treatment in very young preterm small for gestational age children. *Horm Res* 2009; 72 (5):275-80
- Garofano A, Czernichow P, Breant B. In utero undernutrition impairs rat beta-cell development. *Diabetologia* 1997; 40 (10): 1231-4
- Geelhoed JJ, Mook-Kanamori DO, et al. (2008). Variation in the IGF1 gene and growth in foetal life and infancy. The Generation R Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68(3):382-9
- Geremina C, Cianfarani S. Laboratory tests and measurements in children born small for gestational age (SGA). *Clinica Chimica Acta*, 2006; 364 (1-2):113-123
- Håkansson S, Farooqi A, et al. Proactive management promotes outcome in extremely preterm infants: A population-based comparison of two perinatal management strategies. *Pediatrics* 2004; 114: 58–64
- Hales CN, Barker JP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 1992; 3:595-601
- Harding JE. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiology* 2001; 30:15-23
- Hattersley AT, Tooke JE. The fetal insulin hypothesis: and alternative explanation of the association of low birth weight with diabetes and vascular disease. *Lancet* 1999; 353:1789-1792
- Heijmans BT, Tobi EW, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008; 105:17046–17049
- Herber-Jonat S, Streiftau S, et al. Long-term outcome at age 7-10 years after extreme prematurity - a prospective, two centre cohort study of children born before 25 completed weeks of gestation (1999-2003). *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014; 16:1620-6
- Hoekstra RE, Ferrara TB, et al. Survival and long-term neurodevelopmental outcome of extremely premature infants born at 23–26 weeks' gestational age at a tertiary center. *Pediatrics* 2004; 113: e1–e6.
- Hofman PL, Cutfield WS, et al. Insulin resistance in short children with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 402-406
- Hofman PL, Regan F, Cutfield WS. Prematurity--another example of perinatal metabolic programming? *Horm Res* 2006; 66(1):33-9. Epub 2006 May 24
- Horemuzova E, Amark P, et al. Growth charts and long-term sequelae in extreme preterm infants--from full-term age to 10 years. *Acta Paediatr* 2014; 103(1):38-47
- Hunt KJ, Lukanova A, et al. A potential Inverse Association Between Insulin-Like Growth Factor I and Hypertension in a Cross-Sectional Study. *Ann Epidemiol* 2006; 16(7):563-71
- Chan K, Ohlsson A, et al., the Canadian Neonatal Network. Survival, morbidity and resource use of infants of 25 weeks' gestational age or less. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 220–226

Chatelain P. Children Born with Intra-uterine Growth Retardation (IUGR) or Small for Gestational Age (SGA): Long Term Growth and Metabolic Consequences. *Endocrine Regulations* 2000; 33:33-36

Cheon JL, Hunt RW, et al. Head Growth in Preterm Infants: Correlation With Magnetic Resonance Imaging and Neurodevelopmental Outcome. *Pediatrics* 2008; 121:e 1534-e1540

Chernausk SD. Update: Consequences of Abnormal Fetal Growth *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(3): 689–695

Ibáñez L, Ong K, et al. Early development of adiposity and insulin resistance after catch-up weight gain in small-for-gestational-age children. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(6):2153-8

Imdad A, Bhutta ZA. Effect of balanced protein energy supplementation during pregnancy on birth outcomes. *BMC Public Health* 2011; 11 Suppl 3:S17

Itabashi K, Horiuchi T, et al. Mortality rates for extremely low birth weight infants born in Japan in 2005. *Pediatrics* 2009; 123: 445–450

Jacquet D, Deghmond S, et al. Dynamic Change in adiposity from fetal to postnatal life is involved in the metabolic syndrome associated with reduced fetal growth. *Diabetologia* 2005; 48 (5): 849-55

Jarjour IT. Neurodevelopmental outcome after extreme prematurity: a review of the literature. *Pediatr Neurol* 2015; 52(2):143-52

Jefferies AL, Kirpalani HM, and Canadian Paediatric Society Fetus and Newborn Committee. Counselling and management for anticipated extremely preterm birth. *Paediatr Child Health* 2012; 17(8): 443-444

Jensen RB, Chellakooty M, et al. Intrauterine growth retardation and consequences for endocrine and cardiovascular diseases in adult life: does insulin-like growth factor-I play a role? *Horm Res* 2003; 60, Suppl 3:136-48

Johnston LB, Dahlgren J, et al. Association between insulin-like growth factor I (IGF-I) polymorphisms, circulating IGF-I, and pre – and postnatal growth in two European small for gestational age populations. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (10): 4805-10

Kajantie E, Fall CH, et al. Serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-1 in elderly people: relationships with cardiovascular risk factors, body composition, size at birth and childhood growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (3): 1059-65

Kind KL, Clifton PM, et al. Effect of maternal feed restriction during pregnancy on glucose tolerance in the adult guinea pig. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284(1):R140-52

Kobzová J, Vignerová J, et al. The 6th nationwide anthropological survey of children and adolescents in the Czech Republic in 2001. *Centr Eur J Public Health*. 2004; 12 (3): 126-30

Kuban KC, Allred EN, et al. Developmental Correlates of Head Circumference at Birth and Two Years in a Cohort of Extremely Low Gestational Age Newborns. *J Pediatr.* 2009; 155: 344 -9

Kytnarová J, Veselá K, Zlatohlávková B, et al. Cytosine-Adenosine (CA)_n repeats polymorphism in IGF-I gene and early growth in infants born appropriate and small for gestational age. *Neuro Endocrinol Lett* 2009; 30 (4):501-5

Lambertini L, Lee TL, et al. Differential methylation of imprinted genes in growth-restricted placentas. *Reprod Sci* 2011; 18:1111–1117

Landman E., Geller F, et al. Absence of the Wild-type Allele (192 Base Pairs) of a Polymorphism in the Promoter Region of the IGF-|I Gene but Not a Polymorphism in the Insulin Gene Variable Number of Tandem Repeat Locus Is Associated With Accelerated Weight Gain in Infancy. *Pediatrics* 2006; 118:2374-2379

Langford K, Blum W, et al. The pathophysiology of the insulin-like growth factor axis in fetal growth failure: a basis for programming by undernutrition? *Eur J Clin Invest* 1994; 24(12):851-6

Larnkjaer A, Ingstrup HK, et al. Early programming of the IGF-I axis: negative association between IGF-I in infancy and late adolescence in a 17-year longitudinal follow-up study of healthy subjects. *Growth Horm IGF Res* 2009; 19(1):82-6

Lee PA, Chernausek D, et al. International Small for Gestational Age Advisory Board Consensus Development Conference Statement: Management of Short Children Born Small for Gestational Age, April 24-October 1, 2001. *Pediatrics* 2003; 111:1253–1261

Leen MH, Fritshche A, et al. Genetic Factors and Insulin Secretion. *Gene Variants in the IGF Genes.* *Diabetes* 2004; 53, supp. I: S26-30

Liu JP, Baker J, et al. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (igf-I) and type I IGF receptor (igfIr). *Cell* 1993; 75: 59-72

Lui K, Bajuk B, et al. Perinatal care at the borderlines of viability: a consensus statement based on a NSW and ACT consensus workshop. *MJA* 2006; 185: 495-500

Makhoul IR, Award E, et al. Parenteral and perinatal factors affecting childhood anthropometry of very-low-birth-weight premature infants: a population-based survey. *Acta Paediatr* 2009; 98 (6):963-9

Markestad T, Kaaresen PI, et al. Norwegian Extreme Prematurity Study Group. Early death, morbidity, and need for treatment among extremely premature infants. *Pediatrics* 2005; 115: 1289–1298

Marlow N, Wolke D, et al. for the EPICure Study Group. Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *N Engl J Med* 2005; 352: 9–19

Matveyenko AV, Singh I, et al. Differential Effects of Prenatal and Postnatal Nutritional

- Environment on β -Cell Mass Development and Turnover in Male and Female Rats. *Endocrinology* 2010; 151(12): 5647–5656
- Mauras, N, Martinez V, et al. Recombinant human insulin-like growth factor I has significant anabolic effects in adults with growth hormone receptor deficiency: studies on protein, glucose, and lipid metabolism. *J. Clin. Endocr. Metab.* 2000; 85: 3036-3042
- Mikkola K, Ritari N, et al., for the Finnish ELBW Cohort Study Group. Neurodevelopmental outcome at 5 years of age of a national cohort of extremely low birth weight infants who were born in 1996–1997. *Pediatrics* 2005; 116: 1391–1400
- Milner KM, Neal EF, et al. Long-term neurodevelopmental outcome in high-risk newborns in resource-limited settings: a systematic review of the literature. *Paediatr Int Child Health* 2015; 35 (3): 227-42
- Mølholm Hansen B, Greisen G. Preterm delivery and calculation of survival rate below 28 weeks of gestation. *Acta Paediatr* 2003; 92: 1335–1338
- Morgan AR, Thompson JM, et al. Obesity and diabetes genes are associated with being born small for gestational age: results from the Auckland Birthweight Collaborative study. *BMC Med Genet* 2010; 11:125
- McMullen S, Langley-Evans SC, et al. A common cause for a common phenotype: the gatekeeper hypothesis in fetal programming. *Med Hypotheses* 2012; 78(1):88-94
- Neitzke U, Harder T, et al. Intrauterine growth restriction in a rodent model and developmental programming of the metabolic syndrome: a critical appraisal of the experimental evidence. *Placenta* 2008; 29(3):246-54
- Nuffield Council on Bioethics. Critical care decisions in fetal and neonatal medicine: ethical issues. Available at: www.nuffieldbioethics.org/go/ourwork/neonatal/publication_406.html (accessed June 15, 2008)
- Ochiai M, Kinjo T, et al. Survival and neurodevelopmental outcome of preterm infants born at 22-24 weeks of gestational age. *Neonatology* 2014; 105 (2): 79-84
- Oliver MH, Harding JE, et al. Fetal insulin – like growth factor (IGF)-I and IGF-II are regulated differently by glucose or insulin in the sheep fetus. *Reprod Fertil Dev* 1996; 8(1): 167-72
- Olsen IE, Lawson ML, et al. Use of a Body Proportionality Index for Growth Assessment of Preterm Infants. *J Pediatr* 2009; 154: 486-91
- Ong KK, Kennedy K, et al. Postnatal growth in preterm infants and later health outcomes: a systematic review. *Acta Paediatr* 2015; 104(10): 974-86
- Orbak Z, Darcan S, et al. Maternal and fetal serum insulin-like growth factor – I (IGF – I) IGF binding protein-3 (IGFBP-3), leptin levels and early postnatal growth in infants born asymmetrically small for gestational age. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001; 14 (8): 1119-27
- Paajanen TA, Oksala NKJ, et al. Short stature is associated with coronary heart disease: a

systematic review of the literature and a meta-analysis. *Eur Heart J* 2010; 31(14):1802-9

Park JH, Stoffers DA, et al. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest* 2008; 118: 2316-2324

Pejznochová M, Tesarova M, Hanzikova H et al. Mitochondrial DNA content and expression of genes involved in mtDNA transcription, regulation and maintenance during human fetal development. *Mitochondrion* 2010; 10(4):321-9

Peterson J, Taylor HG, et al. Subnormal head circumference in very low birth weight children: neonatal correlates and school-age consequences. *Early Hum Dev* 2006; 82(5):325-34.

Plavka R, 2014; dostupné na

<http://www.neonatology.cz/upload/www.neonatology.cz/morbidita/nu-2014-pro-www.ppt>

Ranke MB, Krägeloh-Mann I, Vollmer B. Growth, head growth, and neurocognitive outcome in children born very preterm: methodological aspects and selected results. *Dev Med Child Neurol* 2015; 57 (1):23-8

Ravelli ACJ, van der Meulen JHP, et al. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 1998; 351: 173-77

Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* 1976; 295(7): 349-53

Rietveld I, Ikram MK, et al. An IGF-I Gene Polymorphism Modifies the Risk of Diabetic Retinopathy. *Diabetes* 2006; 55 (8): 2387-91

Rietveld I, Hofman A, et al. An insulin-like growth factor-I gene polymorphism modifies the risk of microalbuminuria in subjects with an abnormal glucose tolerance. *Eur J Endocrinol* 2006; 154:715–21

Rietveld I, Janssen JA, et al. A polymorphism in the IGF-I gene influences the age-related decline in circulating total IGF-I levels. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 171-175

Rietveld I, Janssen JAMJL, et al. A polymorphic CA repeat in the IGF-I gene is associated with gender-specific differences in body height, but has no effect on the secular trend in body height. *Clinical Endocrinology* 2004; 61: 195-203

Rijken M, Stoelhorst GMSJ, et al. Mortality and neurologic, mental, and psychomotor development at 2 years in infants born less than 27 weeks' gestation: The Leiden Follow-UP Project on Prematurity. *Pediatrics* 2003; 112: 351–358

Riley K, Roth S, et al. Survival and neurodevelopmental morbidity at 1 year of age following extremely preterm delivery over 20-year period: a single centre cohort study. *Acta Paediatr* 2008; 97: 159–165

Roberts G, Cheong J, et al. Victorian Infant Collaborative Study Group. Growth of extremely preterm survivors from birth to 18 years of age compared with term controls.

Pediatrics 2013;131(2):e439-45.

Roggero P, Gianni ML, et al. Rapid recovery of fat mass in small for gestational age preterm infants after term. PLoS One 2011; 6(1):e14489

de Rooij SR, Painter RC, et al. Impaired insulin secretion after prenatal exposure to the Dutch famine. Diabetes Care 2006;29(8):1897-901

Roseboom TJ, van der Meulen JHP, et al. Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944–45 Heart 2000; 84:595–598

Roswall J, Bergman S, et al. Population based whist circumference and waist-to- height ratio reference values in preschool children. Acta Paediatr 2009; 98:1632-6

Saigal S, Stoskopf B, et al. Growth trajectories of extremely low birth weight infants from birth to young adulthood: a longitudinal, population-based study. Pediatr Res 2006; 60(6):751-8

Sathishkumar K, Elkins R, et al. Protein restriction during pregnancy induces hypertension and impairs endothelium-dependent vascular function in adult female offspring. J Vasc Res 2009; 46(3):229-39

Sebert S, Sharkey D, et al. The early programming of metabolic health: is epigenetic setting the missing link? Am J Clin Nutr 2011; 94:1953S–1958S.

Shin BC, Dai Y, et al. Pre- and Postnatal Calorie Restriction Perturbs Early Hypothalamic Neuropeptide and Energy Balance. J Neurosci Res 2012; 90(6):1169-82

Sices L, Wilson-costello D, et al. Postdischarge growth failure among extremely low birth weight infants: Correlates and consequences. Pediatr Child Health 2007; 12 (1): 22-28

Singh J, Fanaroff J, et al. Resuscitation in the “grey zone” of viability: Determining physician preferences and predicting infant outcomes. Pediatrics 2007; 120: 519–526

Somm E, Vauthay DM, et al. Early Metabolic Defects in Dexamethasone-Exposed and Undernourished Intrauterine Growth Restricted Rats. PLoS One 2012; 7(11): e50131

Sommer C, Urlesberger B, et al. Neurodevelopmental outcome at 2 years in 23 to 26 weeks old gestation infants. Klin Paediatr 2007; 219 (1):23-9

Stocker CJ, Arch JR, Cawthorne MA. Fetal origins of insulin resistance and obesity. Proc Nutr Soc 2005; 64 (2): 143-51

Szitanyi P, Pistulkova H, et al. Apolipoprotein E/intrauterine undernutrition interaction and hypercholesterolemia in children. Physiol Res 2008; 57(6): 965-8

Taylor RW, Williams SM, et al. Whist circumference as a measure of trunk fat mass in children aged 3 to 5 years. Int J Paediatr Obes 2008; 3: 226-33

Tommiska V, Heinonen K, et al. No improvement in outcome of nationwide extremely low birth weight infant populations between 1996-1997 and 1999-2000. Pediatrics 2007; 119: 29–

Tyson JE, Parikh NA, et al., for the NICHD Neonatal Research Network. Intensive care for extreme prematurity – moving beyond gestational age. *N Engl J Med* 2008; 358: 1672–1681

Tzschoppe A, Riedel C, et al. Differential effects of low birthweight and intrauterine growth restriction on umbilical cord blood insulin-like growth factor concentrations. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2015; 83(5):739-45

Ulthaya S, Thomas EL, et al. Altered adiposity after extremely preterm birth. *Pediatr Res* 2005; 57 (2): 211-5

Vaessen N, Heutink P, et al. A Polymorphism in the Gene for IGF-I Functional Properties and Risk for Type 2 Diabetes and Myocardial Infarction. *Diabetes* 2001; 50: 637-642

Vaessen N, Janssen JA, et al. Association between genetic variation in the gene for insulin-like growth factor I and low birthweight. *Lancet* 2002; 359: 1030-1037

Vanhaesebrouck P, Allegaert K, et al. The EPIBEL Study: Outcomes to discharge from hospital for extremely preterm infants in Belgium. *Pediatrics* 2004; 114: 663–675

Te Velde SJ, Van Rossum EF, et al. An IGF-I promoter polymorphism modifies the relationships between birth weight and risk factors for cardiovascular disease and diabetes at age 36. *BMC Endocr Disord* 2005; 5:5

Verkauskiene R, Beltrand J, et al. Impact of fetal growth restriction on body composition and hormonal status at birth in infants of small and appropriate weight for gestational age *Eur J Endocrinol* 2007; 157(5):605-12

Vohr BR, Wright LL, et al. Neonatal Research Network. Center differences and outcomes of extremely low birth weight infants. *Pediatrics* 2004; 113(4): 781-9

Voorhoeve PG, Van Rossum EF, et al. Association between an IGF-I gene polymorphism and body fatness: differences between generations. *Eur J pediatr* 2006; 154 (3): 379-88

Wood NS, Costeloe K, et al. The EPICure study: growth and associated problems in children born at 25 weeks of gestational age or less. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: 492-500

Woods KA, Camacho-Hubner C, et al. Intrauterine growth retardation and postnatal growth failure associated with deletion of the Insulin-like Growth Factor I Gene. *New England J Med* 1999; 335(18): 1363 – 1367

Yazdanpanah M, Sayed-Tabatabaei FA, et al. IGF-I gene promoter polymorphism is a predictor of survival after myocardial infarction in patient with type 2 diabetes. *European J of Endocrinology* 2006; 155: 751-756

Yuen RK, Peñaherrera MS, et al. DNA methylation profiling of human placentas reveals promoter hypomethylation of multiple genes in early-onset preeclampsia. *Eur J Hum Genet* 2010; 18:1006–1012