



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ-СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Д-Р СТАНИСЛАВА ГЕОРГИЕВА ХИТРОВА-НИКОЛОВА

ДИНАМИКА НА ВИТАМИН Д
ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННО РОДЕНИ ДЕЦА С
ГЕСТАЦИОННА ВЪЗРАСТ ПОД 32 СЕДМИЦИ
И ТЕГЛО ПОД 1500 ГРАМА

Научна специалност

Неонатология

Дисертационен труд за присъждане на научна и образователна степен

„Доктор”

София, 2015

СЪДЪРЖАНИЕ

| | |
|---|-----------|
| Използвани съкращения | 5 |
| I. ВЪВЕДЕНИЕ | 6 |
| II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР | 7 |
| 1. Витамин Д метаболизъм | 7 |
| 1. 1. Класически функции на витамин Д | 13 |
| 1. 2. Некласически функции на витамин Д | 14 |
| 2. Витамин Д през бременността | 15 |
| 2. 1. Участие на плацентата във витамин Д обмяната | 16 |
| 2. 2. Витамин Д ефекти върху майката и плода | 18 |
| 2.3. Витамин Д ефекти при предтерминно родените деца | 23 |
| 3. Определяне на витамин Д статус | 27 |
| 4. Проблемът- дефицит на витамин Д | 28 |
| 5. Наши проучвания върху витамин Д обмяната при предтерминно родени деца | 32 |
| III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ | 34 |
| IV. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ | 36 |
| 1. Клинични контингенти | 36 |
| 2. Изследователски методи | 37 |
| 2. 1. Клинични и лабораторни методи | 37 |
| 2. 2. Лабораторни методи | 40 |
| 2. 3. Статистически методи | 43 |
| V. РЕЗУЛТАТИ | 45 |

| | |
|--|-----------|
| 1. Характеристика на изследваните контингенти | 45 |
| 1. 1. Социо-демографски характеристики и анализ на заболеваемостта на майките | 45 |
| 1. 2. Характеристика и заболеваемост на новородените | 50 |
| 1. 3. Клиничен изход | 52 |
| 2. Витамин Д статус при групите пациенти | 54 |
| 2. 1. Анализ на серумните нива на витамин Д при майките | 54 |
| 2. 2. Анализ на серумните нива на витамин Д от пъпна връв при новородените | 55 |
| 2. 3. Корелация | 56 |
| 2. 4. Сезонна динамика на витамин Д в изследваната популация | 57 |
| 3. Динамика на нивата витамин Д при децата - раждане и на осма седмица | 64 |
| 3. 1. Промяна по групи спрямо изходният витамин Д и суплементиращата доза | 65 |
| 3. 2. Динамика на витамин Д при раждане и на 8 седмица при недоносените деца с ниско и съответно за г.в. тегло | 68 |
| 4. Динамика на серумните биохимични костни маркери при децата | 70 |
| 4.1. Анализ на промените в концентрациите на серумните минерали | 71 |
| 4. 2. Анализ на промените в концентрациите на серумната алкална фосфатаза и паратхормон | 73 |
| 5. Проследяване на децата по клиничко-терапевтични показатели | 81 |
| 5. 1. Анализ на честота на БПД спрямо нивата на витамин Д при раждане | 84 |
| 5. 2. Остеопения на недоносените | 87 |
| VI. ОБСЪЖДАНЕ | 91 |

| | |
|----------------------|------------|
| VII. ИЗВОДИ | 119 |
| VIII. ПРИНОСИ | 125 |
| IX. КНИГОПИС | 126 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ | 157 |

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

| | |
|-------------------------|---|
| AB | Апаратна вентилация |
| БПД | Бронхо-пулмонална дисплазия |
| г.с. | Гестационна възраст |
| ИУР, ИУХ | Интраутеринна хипотрофия/ ретардация |
| КС | Кортикостероиди |
| НИО | Неонатално интензивно отделение |
| ТПХ | Тотално парентерално хранене |
| 25(OH) D | 25 хидроксихолекалциферол / калцидиол / Д ₂ |
| 1,25(OH) ₂ D | 1,25 Дихидроксихолекалциферол /калцитриол/ Д ₃ |
| AP | Алкална фосфатаза |
| Ca | Калций |
| CAMP | Човешки кателицидин антимикробен пептид |
| DEXA | Dual energy X ray absorbtion |
| ELBW | Екстремно ниско тегло при раждане |
| P | Фосфор |
| PTH | Паратхормон |
| DBP | Витамин Д свързващ протеин |
| VDR | Витамин Д нуклеарен рецептор |
| VLBW | Много ниско тегло при раждане |

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Ембриогенезата, растежа и развитието на скелетната система на плода и новороденото се осъществява под влиянието на гени, растежни фактори и ензими. Интересът към неонаталното костно здраве нараства все повече през последните години. В сравнение с другите органи и системи, промените в скелетната тъкан на новородените се развиват значително по-бавно, но оказват влияние върху костното здраве през детството и юношеството [7]. Все по-често костната минерализация се превръща в едно от големите предизвикателства при лечението и грижите на новородените с изключително ниско /ELBW/ и много ниско тегло /VLBW/.

Преждевременното раждане е причина за намалени минерални запаси /калций и фосфор/ и витамин Д, които се натрупват предимно през третия триместър от бременността в резултат на активен плацентарен транспорт.

Витамин Д е плеотропен секостероиден хормон с огромно значение за здравословното състояние и профилактиката на различни заболявания при човека.

Класическата функция на витамин Д е свързана главно с калциевата хомеостаза и костната минерализация. Натрупаните в последните години проучвания разкриват въздействието му върху различни видове клетки и тъкани. Това включва влияние върху имунната система, регулация на клетъчната пролиферация, диференциация и превенцията на редица заболявания.

Адекватният внос на витамин Д по време на бременността е изключително важен за здравето на майката и плода. Епидемиологични данни от различни страни [88, 89, 134, 215] сочат висока честота на дефицит на витамин Д при бременни жени и техните новородени. Недостигът и дефицита на витамин Д се свързват с някои заболявания

през бременността като прееклампсия [26, 33, 42], гестационен диабет [127, 233], бактериална вагиноза [35], интраутеринна ретардация на плода и ниско тегло на новороденото [129].

На фона на увеличаващата се честота на преждевременни раждания и намаляващата раждаемост, проучванията върху витамин Д обмяната биха подобрили грижите и наблюдението на тази рискова група пациентки и техните новородени.

Ето защо проблемът за дефицит на витамин Д при жени с рискова бременност и предтерминно родените деца е актуален и дава основание за разработка на настоящият дисертационен труд.

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Витамин Д метаболизъм

Витамин Д е открит от McCollum et al. през далечната 1921 година, като фактор извлечен от рибео масло на черен дроб от риба треска и използван за лечение на рахит. През 1937 година витамин Д₃ е изолиран от Windaus и Wock като естествено формиран в кожата под влиянието на слънчевата ултравиолетова радиация. През средата на миналият век последват редица проучвания относно неговата ендогенна синтеза, метаболизъм и използването му при лечението на рахит [60].

През последните две десетилетия обаче интереса към него се фокусира предимно на влиянието му върху редица други процеси в човешкият организъм.

Той не е истински витамин, тъй като диетата не е единствения му източник. По своята стероидна структура той представлява прохормон, синтезиран от стероиден прекурсор.

Витамин Д е общо название на химически свързано семейство секостероидни хормони. Витамин Д₂- 25(OH)D ергокалциферол се синтезира от растенията, а витамин Д₃- 1,25(OH)₂D холекалциферол се

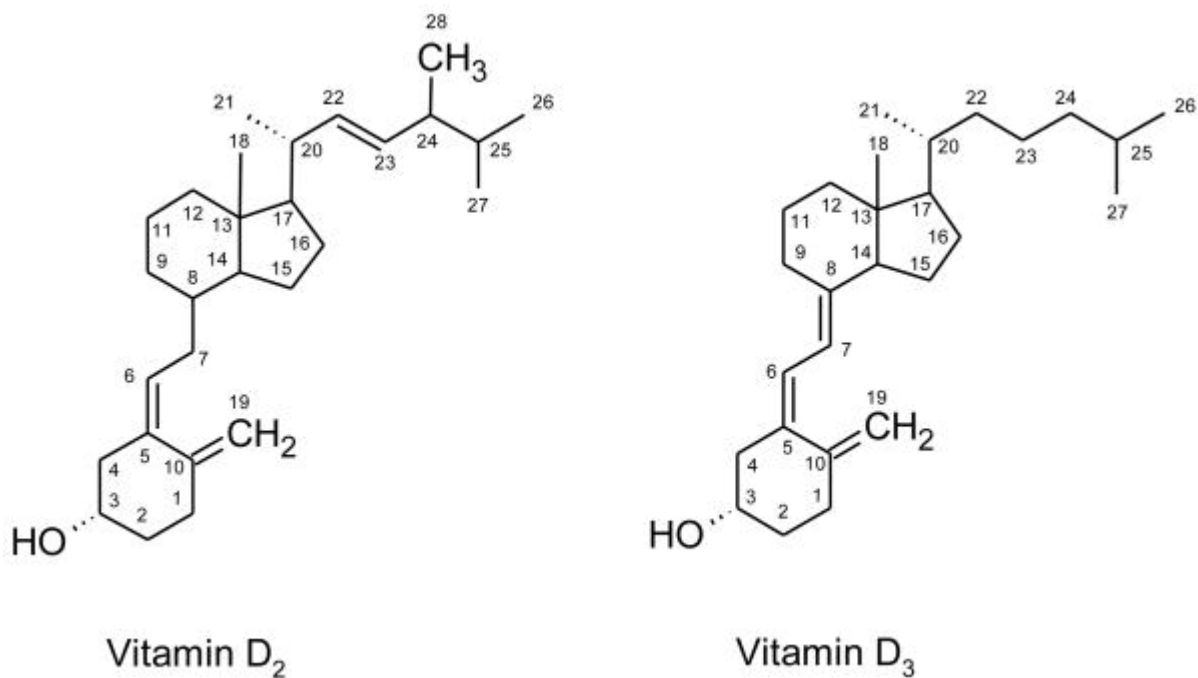
образува в организма на бозайниците. Терминът витамин Д се използва за обозначаване и на двете форми.

Човек набавя необходимият витамин Д по **ендогенен път** - кожна синтеза, медирана от ултравиолетовите лъчи и **екзогенен път** - внос с определени храни /морски риби, рибено масло, мляко, млечни произведения, черен дроб, яйчен жълтък, индустриално обогатени с витамин Д храни, мултивитаминни хранителни добавки/.

Слънчевите лъчи с дължина на вълната 290-315 nm конвертират 7-дехидрохолестирола от стратум базале на кожата в превитамин Д₃.

Превитамин Д₃ претърпява няколко реакции: фотоизомеризация до лумистерол и тахистерол и последващо конвертиране чрез температурозависима изомеризация до холекалциферол. Този ендогенен път на синтез зависи от сезона, географската ширина, надморската височина, времето на експозиция на кожата на слънце и пигментацията ѝ. Кожният пигмент меланин абсорбира UV във фотоните и може да редуцира витамин Д₃ синтезата до 90%. Това обяснява повишената честота на витамин Д дефицит при населението с по-тъмна пигментация на кожата [37]. Зимният сезон, високата надморска височина, урбанизацията, живота в затворени помещения и широката употребата на кремове със слънцезащитен UV фактор допринасят за ниския кожен синтез.

Витамин Д е наличен и от растителни източници под формата на ергокалциферол /Витамин Д₂/ . Структурната разлика помежду им е наличието на допълнителна метилова група и двойно свързване на позиция 22-23 в страничната верига, което отличава Д₂-25(OH) D.



Фигура 1. Химична структура на витамин D₂ и витамин D₃ [107]

Двете съединения се метаболизират по сходен начин и са еквивалентни, затова те често биват означавани като витамин Д или калциферол [16].

Образуването в кожата превитамин D₃ се свързва с витамин Д-свързващия протеин -DBP и се транспортира до черният дроб.

Витамин Д и метаболитите му са хидрофобни, като над 99% от тях се транспортират посредством DBP, само малка фракция <1% чрез албумин и липопротеин [55]. Смята се, че при възрастните около 90% от нуждите се доставят чрез ендогенна фотосинтеза в кожата- около 100-400 UI/дн., а едва 10 до 20 % от нужното количество се дължи на хранителния прием [3].

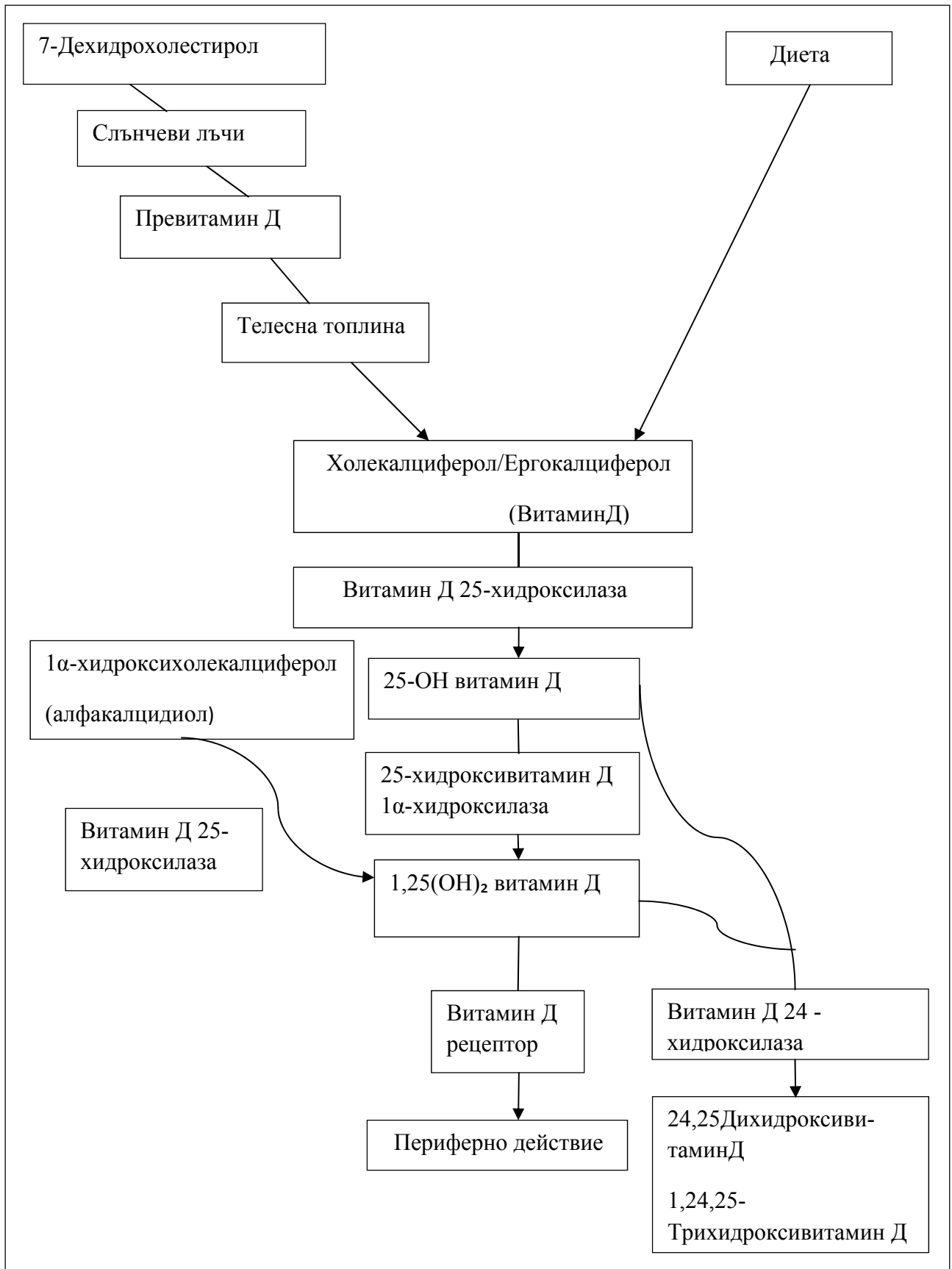
Ентералният внос на ергокалциферола се осъществява чрез абсорбция в тънките черва и трансфер от хиломикрони към лимфната система. Посредством кръвта и лимфната система, той достига до черният дроб. Превръщането на D₂ и D₃ в активни метаболити преминава през няколко етапа. В микрозомите и митохондриите на хепатоцита под въздействието на ензима 25-хидроксилаза се осъществява първата

хидроксилация, за да се получи 25-хидрокси витамин Д- **25(OH)D калцидиол**. Тази главна циркулираща форма достига бъбреците. Тя се използва като индекс за определяне на витамин Д статуса. В митохондриите на проксималните нефрони 25(OH)D претърпява 1 α хидроксилация, при която се образува крайната активна форма- **1,25(OH)₂D- калцитриол**. Това е най-важният и биологично активен метаболит, влияещ върху таргетните органи- бъбреци, чревен епител, скелет, паращитовидни жлези и имунна система [134]. Той е десет пъти по- активен от 25(OH)D. Бъбрекът може да конвертира 25(OH)D и до друг метаболит- 24,25 ОН-D. Това е метаболит, циркулиращ в 100-пъти по- висока концентрация, отколкото тази на 1,25(OH)₂ D. Биологична му роля обаче остава неясна, като основно се предполага участието му в интрамембранозното костно формиране [3, 210].

Активирането на специфичния бъбречен ензим 1 α хидроксилаза се осъществява под действието на паратхормон /PTH/, инсулино-подобен растежен фактор I / IGF-I/, хипофосфатемия, повишени калциеви нужди при растеж, бременност, нисък ентерален калциев внос. Ензимът 1 α -хидроксилаза бива инхибиран от калцитонин и високи нива на 1,25(OH)₂D. Активирането му се осъществява под въздействието на паратхормон и инсулин-подобният растежен фактор- IGF-I.

В процесите на превръщане на витамин Д в активен метаболит важна роля има и цитохром P450 системата с два от ключовите си ензима- CYP 27A1 в черния дроб, и CYP 27B1 в бъбрека. Тяхната експресия и регулация се осъществяват в синхрон със серумните концентрации на Ca, P, PTH и 1,25(OH)₂ D [83].

Фигура 2. Диаграмно представяне на витамин Д метаболитизъм по Allgrove J, Shaw NL. [16]



Понижената калциева концентрация увеличава PTH, което на свой ред стимулира реналната хидроксилация на 25(OH)D към 1,25(OH)₂D. При високи концентрации на 1,25(OH)₂D обратно се инхибира хидроксилацията на 25(OH)D и секрецията на PTH. 1,25(OH)₂D промотира активната чревна резорбция на калций, фосфор и се усилва ефекта на PTH върху нефрона върху реналната тубулна реабсорбция.

Действието на витамин Д₃ е медирано от високоспецифичен, собствен, нуклеарен витамин Д рецептор (VDR). Той е представен освен в таргетните органи и в други тъкани като: имунната система, бета панкреасните клетки, мозък, сърдечно-съдова система [134]. Биологичната активност на витамин Д₃ се осъществява чрез два модела-бавен геномен отговор и бърз негеномен отговор [138]. Те стартират със свързването между комплекса витамин Д₃/VDR и нуклеарни рецептори от супер-фамилията за стероидни хормони.

Витамин Д е главна част от парашитовидно-бъбречната ос, включваща PTH и 1,25(OH)₂D. Тяхното съвместно въздействие контролира костното формиране, мобилизацията на минерали, регулация на интестиналното и ренално абсорбиране [202].

PTH е едноверижен полипептид секретирани от парашитовидните жлези. Нормалните циркулиращи нива са от 10 до 60 pg/ml. Максимално стимулираните /хипокалциемични/ и максимално супресирани /хиперкалциемични/ нива за нормална парашитовидна функция са около 100-150 pg/ml и 2 до 5 pg/ml.

Неговата роля е да мобилизира калция и фосфора от костите, да стимулира Ca реабсорбция, да инхибира фосфорната реабсорбция, да стимулира реналната синтеза на 1,25(OH)₂ D, който от своя страна заедно с PTH увеличава ефективността на Ca и P интестинална абсорбция. По тази причина PTH води до покачване на серумните Ca нива, и поддържа или понижава серумните P нива.

Раждането прекъсва постоянния трансфер на Са, което води до едновременно покачване на PTH и $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ с цел стабилизиране на Са нива и адаптация на новороденото към екстраутеринната минерална хомеостаза [114].

Друг регулатор е PTH-related протеин /PTHrP/- вторият член от семейството на PTH. PTHrP е мултифункционална молекула широко застъпена във феталните тъкани с локални функции в морфогенезата и диференциацията. Две са важните експресии на PTHrP в човешкия организъм - във фетуса и при кърмещите жени. Това го прави важен калцитропен хормон [203]. При фетуса плазмените нива на PTH са ниски, а на PTHrP са високи, вероятно това е важно за феталният метаболизъм [203].

1.1. Класически функции на витамин Д

Те са добре проучени в таргетните органи - черва, черен дроб, бъбреци и кости. Витамин Д осъществява регулиране на калциево-фосфорната абсорбция, костният синтез и метаболизъм.

Витамин Д повишава калциевата интестинална абсорбция, чрез усилване калциевият внос през ентероцитната мембрана. Той въздейства на навлизането на калция през калциевите канали, свързването му с калмодулина, транспорта в цитозола, и експорт през базолатералната клетъчна мембрана [3].

При дефицит на витамин Д само 10-15% от приетият с храната калций се усвоява, а при нормални нива тази абсорбция се повишава до 30% Са /дневно. По време на бременност, лактация и растеж се увеличава циркулиращото ниво на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, което повишава ефективността на интестиналната калциева абсорбция до 50-80 %. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ усилва ефективността на абсорбцията и на фосфора от храната до 15-20% [3].

Ефектите на витамин Д върху костта са комплексни. Основен е анаболният ефект. Стимулира остеобластната активност и костно формиране директно върху остеобластите. Индиректното му действие е чрез стимулиране простагландин Е2 секрецията, регулиране експресията на някои костни протеини /остеокалцин/. Съдейства за изграждането на костният матрикс и отлагането на калция като хидроксиапатит, за да се постигне минерализацията на остеоида. Успоредно с това витамин Д косвено инхибира секрецията на паратхормона, като подтиска експресията на гена му и повишава нивото на йонизираният калций.

Бъбрекът участва във втората хидроксилация и превръщането му в 1,25(OH)₂D. От своя страна витамин Д стимулира проксималната фосфатна реабсорбция и обратната резорбция на калция в дисталните тубули.

1.2. Некласически функции на витамин Д

Те засягат редица други системи, чийто клетки притежават витамин Д рецептори като клетки на имунна система, ендокринни жлези, репродуктивна система, сърдечно-съдова система, хемопоезата и мозъка. [161, 173].

Витамин Д участва в **регулацията на имунитета**. Той редуцира активността на придобития имунен отговор и усилва вродения имунен отговор [11, 31, 164]. 1,25(OH)₂ D инхибира IgG продукцията, пролиферацията и диференциацията на В лимфоцитите, инхибира пролиферацията на Т лимфоцитите /предимно Т helper 1/. Така той ограничава продукцията на цитокини от тези клетки в това число на гама интерферон /INF/, интерлевкин 2 /IL-2/ и тумор некрозис фактор/TNF-алфа [159]. Това опосредствува супресията при някои автоимунни заболявания. Влиянието на витамин Д върху вродения имунитет обуславя участието му при **отговора към микробна инвазия**.

В този процес участват витамин Д, миелодните и епителни клетки, които експресират Toll-like рецепторите, CYP27B1 и VDR. Toll-like рецепторите и CYP27B1 индуцират секрецията на антимикробен пептид /SAMР/ от епитела на слюнчените жлези и репродуктивната система. SAMР – човешкият кателицидин антимикробен пептид директно реагира с лиганди от микробен произход. Неговият ген е регулиран от VDR и нивата на 1,25(OH)₂ D. Така дефицита на витамин Д би могъл да инхибира секрецията на този антимикробен пептид [83].

Друго неklasическо действие на витамин Д е **регулация на клетъчната пролиферация**, диференциация, индукция на апоптозата [127, 233].

Витамин Д има антипролиферативен ефект при някои типове клетки /кератиноцити/, и про-диференциационна активност при остеобласти, дендритни клетки, хондоцити, съдов ендотел, клетки на имунната система. Това го прави клинично важен за лечение на заболявания като псориазис, парациотовидна хиперплазия при пациенти с бъбречна недостатъчност, както и за превенция срещу някои видове тумори [218].

2. Витамин Д през бременността

Витамин Д преминава през плацентата, като концентрациите му в пъпната връв корелират с майчините серумни нива. Феталната му бионаличност зависи от майчиният организъм [203].

През бременността настъпват редица промени в нивата на витамин Д и калциевият метаболизъм. Транспортът на калций от майката към фетуса се усилва през втори и трети триместър, чието фундаментално значение е **осификацията на скелета на плода**[72]. Натрупването на калций през третият триместър е от 100 до 130 mg/kg дневно, като пика е между 32 и 36 г.с. Калциевата концентрация на плода в последните три месеца на бременността е по-висока от тази в майчината плазма, което

доказва усилен активен транспорт през плацентата [107]. Натрупването на фосфор е около половината от калциевото отлагане-70-80 mg/kg/дн [72]. Майчините нива на 25(OH)D варират според сезона и хранителният внос. Според Seely et al. серумната концентрация на 1,25(OH)₂D се увеличава в ранните етапи на бременността /още 8-10 г.с./, като така се запазва до термин [185]. Концентрациите на серумният витамин Д свързващ протеин през бременността се удвояват [210].

Бързото нарастване на фетуса във втората половина на бременността намалява майчините витамин Д нива. Майчиният витамин Д статус е отговорен изцяло за феталния и неонатален витамин Д статус. Майчиният 25(OH)D бързо преминава плацентата и още през 24 г.с. се метаболизира до 1,25(OH)₂D от феталния бъбрек. Установено е, че майчините нива на 1,25(OH)₂D се увеличават през третия триместър, вероятно от повишена синтеза в бъбрека. От друга страна 1,25(OH)₂D увеличава майчината интестинална минерална абсорбция, като това вероятно протектира майчината костна система от деминерализация [203].

Във фето-майчината връзка на витамин Д обмяната силно влияние оказва плацентата, която също синтезира витамин Д. Акумулирането на витамин Д и трансфера на минерали осигуряват минерализацията на костната система.

2. 1. Участие на плацентата във витамин Д обмяната

Плацентата формира физическата и функционална бариера между майчината и фетална циркулация. Тя играе фундаментална роля във витамин Д метаболизма през бременността тъй като е източник на калцитриол. Бременността се характеризира с повишени нужди от витамин Д с цел осигуряването му както за майката така и за плода.

Weisman et al. през 1979 година установяват, че човешките децидуални и плацентарни тъкани синтезират 1,25(OH)₂D и 24,25(OH)₂D [228].

Плацентата подобно на бъбрека е способна да осъществява 1α хидроксилация на $25(\text{OH})\text{D}$, което води до покачването на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ през бременността [61].

Плацентата и децидуата генерират голямо количество от $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [228]. Той играе важна роля в авто и паракринен имуномодулаторен отговор през бременността [189, 232]. Човешкият плацентарен трофобласт експресира всички компоненти на витамин Д обмяната-VDR, цитохром P450, CYP27B1, CYP24A1. Децидуалните клетки синтезират $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}$. Тази локална синтеза на витамин Д усилва трофобластният анти-инфламаторен и анти-микробен отговор [123, 204]. Смята се, че трофобластният витамин Д играе ключова роля в плацентарният възпалителен отговор към липополизахаридите от микробен произход при предтерминно раждане [34, 123].

В ранна бременност $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ индуцира децидуализацията, която е ключа към успешна имплантация [86]. Според някои автори $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ подпомага трансформирането на ендометриалните клетки в децидуални [66, 86]. Витамин Д въздейства на децидуалните дендритни клетки, макрофагите, Т-регулаторните клетки. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ инхибира освобождаването на Th1 цитокини, увеличава Th2 цитокини, с което се подпомага имплантацията.

По автокринен път и чрез комбинираното въздействие на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, CYP27B1, CYP24A1 и VDR се регулира експресията на човешкият хорионгонадотропин, човешки плацентарен лактоген, естрадиол, прогестирон и увеличава стероидната плацентарна синтеза [107, 121].

Установено е, че витамин Д увеличава производството на CAMP в децидуата и цитотрофобласта, като протекция срещу инфекция [107, 122]. CYP27B1 модулира функциите на имунната система през ранните етапи на бременността [70]. По-високата плацентарна експресия на CYP27B1 се

свързва със сигнификантно по-високи нива на майчиният 25(OH)D, което подкрепя връзката между серумните нива и плацентарната синтеза [154].

Вероятно фундаменталната плацентарна синтеза на витамин Д засяга натрупването му в костите и осификация на феталният скелет [107]. Смята се, че 24,25(OH)₂D синтезиран от плацентата също се акумулира в костите и подпомага осификацията на скелета на плода [70].

На базата на тези данни може да се заключи, че 1,25(OH)₂D подпомага имплантацията, поддържането на нормална бременност, съдейства за феталният растеж чрез доставка на калций, контролира синтезата на редица плацентарни хормони и ограничава продукцията на проинфламаторни цитокини.

2. 2. Витамин Д ефекти върху майката и плода

Витамин Д вносът е есенциален за майчиното здраве. Нивата на 25(OH)D в серума отразяват витамин Д статуса. Нормално варират от 30-80 ng/ml, като стойности под 30 ng/ml се дефинират като недостиг, а под 20 ng/ml като дефицит [95].

Бременните жени са рискова група за недостиг поради повишени нужди. Настъпването на витамин Д дефицит може да се асоциира с риск от развитието на инфекция, бактериална вагиноза, прееклампсия, инсулинова резистентност, гестационен диабет, повишена честота на цезарово сечение [26, 35, 54, 93, 127, 133, 155, 178, 233].

Влиянието на витамин Д върху **имунната система**, продукцията на цитокини и антибактериални пептиди вероятно регулира бактериалната флора при бременни. Някои автори смятат, че ниските нива на витамин Д увеличават риска от бактериална вагиноза [134]. 1,25(OH)₂D е важен регулатор за продукцията на антимикробният протеин- кателицидин. Той е продукт от неутрофилната дегрануляция и е протектор срещу бактериална инвазия. Инфекция по време на бременността тригерира възпа-

лителна каскада, която увеличава миоетралните контракции и повишава риска за предтерминно раждане.

Витамин Д потенциално може да намали възпалително индуцираното повишение на цитокини (IL-1 β , IL-13, TNF- α) и контрактил-свързаните протеини (конексин 43, експресия на окситоцин и простагландинови рецептори) [209].

Има публикации установяващи, че **пreekламписята** се наблюдава по –често през зимните месеци с по-ниско слънцегреене, което корелира с ниски нива на витамин Д [33, 116, 217]. Редица автори съобщават за ниски серумни нива на 1,25(OH) $_2$ D при бременни с пreekлампися [26, 33, 91, 139, 191, 201, 225, 226, 229]. Точната роля на витамин Д в патогенезата на пreekламписята не е докрай изяснена, но една от хипотезите се базира на факта, че ниските му нива нарушават нормалният Th1 към Th2 баланс. По-високата Th1 цитокинова експресия повлиява неблагоприятно имунологичният толеранс при имплантацията на ембриона [107].

През 2014 година на '16th Vitamin D Workshop' се представи проучване доказващо, че плацентарният синтез на калцитриол –витамин Д $_3$ и плацентарните нива на IGF-1 при пreekлампися са намалени. Инсулино-подобният растежен фактор-1 стимулира плацентарната синтеза на витамин Д. При жени с пreekлампися се установява намаление както на локални нива на IGF-1 и калцитриол, така и на серумните им нива [87].

При бременни с пreekлампися е установена нарушена експресия на витамин Д свързващият протеин, CYP27B1, CYP24A1 и VDR, което води до нарушена плацентарната витамин Д хомеостаза. Няма яснота относно причината за намаляването на VDR експресията при това заболяване, предполага се, че се дължи на дефектна трофобластна инвазия и нарушена ангиогенеза. Някои автори правят аналогия между

трофобластната дисфункция и интраутеринната растежна рестрикция [172].

Бъдещи проучвания върху клетъчната и молекулярна регулация на витамин Д метаболизма и VDR в плацентарният трофобласт ще установят как точно витамин Д влияе върху преекламписята. Според проучване публикувано през 2011год. на Robinson при 56 пациентки с тежка прееклампися с ранно начало, нивото на 25(OH)D е по-ниско, а техните деца са с интраутеринна хипотрофия в сравнение с контролната група жени, чиито деца са с нормален растеж при раждането. Същият колектив установява сигнификантна корелация между нивата на 25(OH)D и персантилните растежни криви при раждане. Вероятно витамин Д оказва влияние на феталният растеж посредством плацентарни механизми. Това представлява първото съобщение за сигнификантна връзка между майчиният витамин Д и феталният растеж [169].

Нормалният фетален растеж се детерминира от редица фактори-генетичен потенциал, майчини фактори, способност на плацентата да трансферира нутритиенти, интраутеринни хормони и растежни фактори. Засягането на всеки един от тях респективно води до интраутеринна растежна ретардация /ИУР/. Нарушаването на плацентарните фактори, усилващи растежа и майчиният хранителен статус оказват влияние върху интраутеринния растеж [202]. Редица автори съобщават, че ниски майчини нива на витамин Д повишават риска от раждане на дете с ИУХ [32, 43, 50, 69, 79].

Витамин Д регулира **инсулиновата секреция** от бета клетките на панкреаса и така повлиява глюкозните нива в серума. Недостигът на витамин Д води до дисфункция на макрофагите, β -клетките на панкреаса и намалени вътреклетъчни калциеви нива. Тези промени от своя страна водят до нарушение на инсулиновата секреция. Установено е, че 1,25(OH)₂D притежава директен протективен ефект върху β -клетките, предпазвайки

ги от деструкция от макрофаги и цитокини [5]. Инсуфициентни му нива са рисков фактор за нарушена глюкозна толерантност, като по-високите серумни концентрации подобряват инсулиновата сензитивност [127]. Според някои автори дефицита на витамин Д увеличава риска за гестационен диабет [20, 162, 233, 236].

Според проучване на Cho GJ, Hong S-C от 2013 год. е налице повишената активност на CYP24A1 в плацентите при жени с гестационен диабет, което вероятно играе ключова роля в развитието на витамин Д дефицит при тях [52].

VDR и $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ нормално усилват скелетните мускулни функции, предполага се, че дефицитът му води до мускулна слабост и увеличен риск от цезарово сечение. Scholl et al. установяват при изследване на 1153 бременни жени, сигнификантно по-висок риск за цезарово сечение при жените с дефицит на витамин Д [182].

През 2009 год. Merewood et al. също потвърждават обратно пропорционалната зависимост между цезаровото сечение и нивата на витамин Д при родилките [133].

Адекватните майчини нива на витамин Д са важни за феталното и детско здраве. Дефицитът на витамин Д увеличава риска от ниско тегло на плода, краниотабес, меки черепни кости като един от най-ранните белези на витамин Д дефицит [73, 184, 227]. При тежък дефицит у майката са описани редки случаи на нарушено скелетно развитие ин утеро [128].

Витамин Д оказва влияние върху феталният растеж като фактор за глюкозна хомеостаза, трансплацентарния й транспорт и фетално усвояване [107]. Той е регулатор на калциевият транспорт и хомеостаза като усилва феталният растеж чрез директно влияние върху скелетната мускулатура и костното развитие. Ниски нива на витамин Д се откриват у деца, родени от майки с ниски нива на $25(\text{OH})\text{D}$ вследствие на лош ентерален внос или липса на излагане на слънце. Феталните плазмени нива

на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ също са относително ниски, въпреки повишената $1,25(\text{OH})\text{D}-1\alpha$ хидроксилазна активност. Главната функция на феталният бъбрек в калциевата хомеостаза вероятно е продукцията на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, последваща ренална тубулна регулация на калциевата екскреция. Относително ниските циркулиращи фетални $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ нива са последица от повишеният плацентарен клирънс. В състава на активираната плацентарна 24- хидроксилазна активност също преференциално се хидроксилира майчината доставка на $25(\text{OH})\text{D}$ до $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ [175]. Тази плацентарна способност да метаболизира $25(\text{OH})\text{D}$ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ вероятно е причина за усиленият клирънс на феталният $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Това лимитира достъпа на плацентарно синтезиран $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ към фетуса и майчината концентрация и разделя майчиният от фетален витамин Д пул [175, 203].

Витамин Д дефицит при майката може да има връзка с повишена честота на **инфекции на дихателната система** и сепсис при деца, без клинични белези на рахит [49, 64, 125, 193].

Проучване проведено в Корея от 2013 год. обхващащо 525 доносени новородени установява, че ниските нива на витамин Д от пълна връв увеличават риска от остри назофарингити до 6 месечна възраст [190]. В проучване, публикувано през 2014 год. от немски колектив, се съобщава за асоциация между ниски нива на витамин Д от пълна връв и повишен риск от инфекции на долните дихателни пътища при деца до едногодишна възраст на базата на проследени 777 двойки майка-бебе [125].

През 2014 год. датски колектив Chawes et al. публикуват проучване проведено в Копенхаген, според което дефицитните нива на витамин Д от пълна връв увеличават 2,7 пъти риска от рецидивирани белодробни заболявания до 7 годишна възраст на детето [49].

Редица проучвания описват връзка между ниски нива от пълна връв и повишен риск от транзиторно бронхиална обструкция, атопичен

дерматит, повишен риск от алергични заболявания в ранна детска възраст [25, 235], както и повишена честота на дихателни инфекции до 2 годишна възраст [140]. Други автори обаче обсъждат липсата на ясна връзка между хиповитаминоза Д, бронхиална астма или алергичен ринит в детството [25, 45, 142].

Според Samargo С. и колектив по- високият майчин витамин Д внос през бременността води до намаляване епизодите на бронхиална обструкция и риска от развитие на бронхиална астма при деца до 3 годишна възраст [46] .

Някои автори съобщават за връзка между майчин дефицит през бременността и заболявания в по-късно в детството като нарушено костно развитие на 9 годишна възраст, диабет тип I, шизофрения [112, 181, 199].

2. 3. Витамин Д ефекти при предтерминно родените деца

През първия ден от живота при 75% от прематурните новородени е налице ранна неонатална хипокалциемия. Хипокалциемията е с кратка продължителност и най-често е без клинични прояви. Дължи се на незрелост в пътя за активиране на витамин Д обмяната, комбинирана с транзиторен хипопаратиреоидизъм, хиперкалцитонинемия и органна резистентност към хормоналните ефекти. В резултат на това следва стръмно покачване на паратхормона, целящо да възстанови нормокалциемията. На 10 постнатален ден серумната концентрация на паратхормона се нормализира и той се възстановява в еутиреоидни нива [180]. И при доносени, и при предтерминно родени деца, нивата на 25 (ОН)D в пъпна връв са по –ниски от майчините серумни нива [180]. Има данни, че при деца родени след 28г.с. активирането на витамин Д функционира още в първите 24 часа след раждането. Витамин Д суплементацията стартираща в първите дни след раждането ще увеличи плазмените му нива [180].

Salle et al. установяват, че при рано суплементирани деца от първата седмица от живота, плазменните нива на 25(OH)D се задържат константни. Нивото на 1,25(OH)₂D се увеличава до тридесетия ден, след което няма значителна промяна до 3 месечна възраст. Концентрациите на 1,25(OH)₂D у прематурни до 3 тия месец са 2 до 3 пъти по-високи от нивата при по-големите деца. Вероятно това представлява компенсаторен ефект, гарантиращ ефективна калциево-фосфорна абсорбция от храната във времето на настъпване на костна минерализация [180].

Предтерминно родените деца имат по-кратка продължителност на акумулиране на витамин Д запаси от майката, но и по-големи нужди от витамин Д поради по-бързия темп на растеж. Често те имат неадекватен витамин Д внос през първите постнатални дни, лимитирано ентерално хранене, интестинална незрелост и обемна рестрикция. Това увеличава риска от неадекватна витамин Д суплементация.

Недостатъчни са данните относно витамин Д статуса при предтерминно родените деца и постнаталното им скелетно развитие. В проучване проведено във Великобритания, обхванало 198 новородени, проследени до 9 годишна възраст се установява, че майчиният витамин Д се асоциира с намалено костно-минерално натрупване при децата [106]. През 2014 год. екип от Австралия публикува данни от проучване, в което се показва, че витамин Д дефицит при бременни жени установен в 18 г.с. води до 2,7% по-ниско общо минерално съдържание и 1,7% по-ниска обща костна минерална плътност при техните деца. Това от своя страна увеличава риска от фрактури до края на детството[234]. Липсват подобни проучвания за предтерминно родените деца.

При наличие на пренатален дефицит и неадекватно суплементиране се очаква да се задълбочи негативния витамин Д статус при децата. Това рефлектира до понижено минерално костно съдържание, нарушено костно развитие и повишена възприемчивост към инфекции.

По време на вътреутробното развитие 80% от костната минерализация на плода настъпва през третият триместър от бременността. Феталните нужди от калций и фосфор достигат вариат от 100 до 120 mg /kg/ден и респективно 60-75 mg /kg/ден за фосфор. Предтерминното раждане прекъсва този повишен внос. Постнаталното увеличаване на костната минерална маса на преждевременно родените деца е по-малко от интраутеринното. Постнаталният недостиг на минерали и витамин Д са основна част от патогенезата на метаболитното костно заболяване на недоносените [168, 203].

Остеопения на недоносеността или неонатално метаболитно костно заболяване е термин с, който се описва редуцираната костна минерализация и повишената склонност към фрактури наблюдавана у преждевременно родени деца.

Заболяването е мултифакторно, като водещи патогенетични фактори са неадекватният калциево-фосфорен внос и дефицита на витамин Д. Най-рискови за заболяването са децата родени с тегло под 1500 гр. , преди 32 г.с. с честота 16-40% за VLBW и ELBW [177]. Според Backstrom et al. честотата на остеопенията варира от 55% при децата родени с тегло под 1000 гр., до 23 % при децата с тегло под 1500 гр. [22].

Предтерминното раждане прекъсва повишения трансфер на минерали /калций, фосфор/, витамин Д, естроген и други хормони, стимулиращи костното изграждане през последния триместър [72]. Това нарушава физиологичната постнатална костна адаптация. Костното формиране се осъществява чрез увеличаване на дължината на костта, костната плътност и сила при оптимално хранене и механични стимули от скелетната мускулатура. Приема се, че структурната база на остеопенията е намалена дебелина или брой на костните трабекули и/или намалена дебелина на костния кортекс, поради недостатъчно натрупване или повишена резорбция на органичния костен матрикс [7]. Развива се субопти-

мална минерализация на остеоидния матрикс, лоша скелетна опора, увеличена честота на костни фрактури настъпващи най-често между 6 и 12 постнатална седмица. Нарушената минерализация на ребрата при засегнатите деца води до увеличен респираторен дистрес, нарушен комплайнс на гръдната стена и намален лонгитудинален растеж [90].

Рискови фактори за остеопения са:

- ниско тегло и гестационна възраст
- хронични заболявания /бронхопулмонална дисплазия, сепсис, НЕК/
- медикаменти /кортикостероиди, бримкови диуретици /фурантрил/, метилксантини/
- пролонгирано парентерално хранене
- късно начало на витамин Д профилактиката и недостатъчна дозировка
- хранене с необогатена кърма
- продължителна имобилизация и липса на кинезитерапия

Важна роля в развитието на остеопенията играе недостига на витамин Д, необходим за поддържането на Са и Р хомеостаза. Той води до ниски нива на йонизирания калций. Това стимулира секрецията на паратхормона и повишава загубата на фосфор с урината. Понижените нива на фосфор и Са водят до костна деминерализация [72,135].

Лабораторната констелация от хипофосфатемия, варираща по степен хипокалциемия, увеличена алкална фосфатаза, увеличени нива на РТН и ниски нива на витамин Д се среща при остеопения на недоносеното. Има публикации, според които въпреки високите стойности на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ може да се наблюдават повишени стойности на РТН и развитие на остеопения. Това се обяснява от авторите с увеличение на 1α - хидроксилазната активност [72].

В литературата няма единно становище кои са най-подходящите биохимични маркери за това заболяване, както и точен алгоритъм за скрининг на рисковите новородени.

За оптимизиране здравето на предтерминно родените деца е важна ролята на витамин Д за неонаталната имунна система. Zitterman и колектив съобщават за сигнификантна асоциация между ниски витамин Д нива в пъпна връв на предтерминно родени деца и ниска концентрация на интерлевкин 10. Незрелостта в продукцията на анти – инфламаторни цитокини увеличава риска за некротизиращ ентероколит у недоносените [149] .

3. Определяне на витамин Д статус

Определяне на серумни нива на 25(OH)D се използва за дефиниране като: дефицитни, достатъчни или инсуфициентни. 25(OH)D е основна циркулираща форма на витамин Д с полуживот около 2-3 седмици. Той отразява както внесеният отвън с храната и мултивитаминни препарати, така и продуцирания в кожата под действието на слънчевите лъчи. Въпреки, че 1,25(OH)₂D е биологично активната форма, той не е идеален маркер за витамин Д статуса на човек. Полуживотът му в циркулацията е едва 4-6 часа, при нива хиляда пъти по-малки от тези на 25(OH)D [96]. При състояние на дефицит увеличената секреция на паратхормон, засилва реналната продукция на 1,25(OH)₂D. Стига се до нормални или повишени нива на 1,25(OH)₂D у хора с подлежащ дефицит. Това прави анализа на 1,25(OH)₂D неефективен за измерване на витамин Д статуса.

През 1997 год. комитет от Institute of Medicine/ IOM/определи 25(OH)D като най-добрият функционален индикатор за витамин Д статуса, тъй като отразява сумата от кожният синтез и оралният хранителен прием [198].

В световен мащаб няма абсолютен консенсус относно нормалните стойности на 25(OH)D.

Прието е да се дефинира дефицит на витамин Д при нива на 25(OH) D<20 ng/ml. За витамин Д недостатъчност се говори при нива от 21-29 ng/ml. Препоръчани нормални нива 25(OH)D са над 30 ng/ml [3, 94, 96, 97].

Не са детерминирани оптималните серумни нива през бременността и неонаталният период, като това остава обект на активни дискусии и проучвания.

Хипервитаминоза Д да се наблюдава много рядко, при средно дневен прием над 10 000 IU. Екссесевните му нива водят до хиперкалциемия, хиперкалциурия, полиурия, дехидратация, хипертензия и засягане на бъбреци, меки тъкани и кости [51, 219].

4. Проблемът- дефицит на витамин Д

През последното десетилетие в световен мащаб се установява широко разпространение на недостиг на витамин Д. Бременността се явява рисков фактор за витамин Д дефицит. Редица автори от различни страни съобщават за висок процент на поднормени нива при бременни жени.

Проучване на Merewood A. et al. през 2009 год . в САЩ съобщава за дефицит при **35,8%** от изследваните жени и **58%** от техните доносени новородени деца [134]. Vodhar L. et al. за северните части на САЩ съобщава за дефицит при бременни жени и доносени новородени вариращи от **29,2%** до **54,1%** при цветнокожи жени и респективно техните доносени новородени 45,6% -46,8%. При жените със светла кожа честотата в проучването варира от 5 % до 42,1 % респективно от 9,7% до 56,4% за новородените им [37].

За различните части на **Европа** процентите на дефицит варират и са съответно:

90,3% от изследвани бременни жени в **Турция** [88]

44,6 % дефицит за **Белгия** [216]

71% от майките и **15 %** от новородените са с дефицит - **Финландия** - Viljakainen HT. et al.2011г. [220].

S. H Dijkstra, A van Beek в проучване през 2006 год. при 100 до-носени новородени в **Холандия** установяват дефицит от **42,5%** от ново-родените на жени със светла кожа и **63,3%** дефицит от новородените на жени с тъмна кожа [63].

Малък е броя проучвания относно витамин Д статуса при пред-терминно родили жени и техните деца [24, 130]. Данните за витамин Д вноса и серумните нива на 25(OH)D при предтерминно родените деца са недостатъчни.

Backstrom MC. et al. в проучване през 1999 г. във **Финландия** обхва-нало 39 новородени родени преди 33 г.с. съобщава, че липсват сигни-фикантни разлики в костната плътност на деца приемали по-ниски дози витамин Д /200-400 IU/дн./ спрямо групата на приемали по-висока доза /960 IU/дн. Децата получавали по-ниска доза обаче имат повече епизоди на респираторен дистрес, по-продължителна апаратна вентилация, по-често респираторна ацидоза, и по-малък минерален внос [24].

Според проучване на Mc Carthy RA , McKenna MJ. et al. проведено в **Ирландия** през 2008-2010 год. се проследяват 274 деца родени преди 32 г.с. с тегло под 1500 гр. Дефицит на витамин Д при първото измерване на серумните нива на средно 18 дневна възраст е налице при 14 % от децата, 65 % са с недостиг и при едва 22% витамин Д е в норма. При дневен внос от 400 IU/ дн. авторите съобщават за повишаване на серумните нива на 7 постнатална седмица. Само 3% от пациентите остават с дефицитни нива, 11% са с недостиг, а при 87% от децата са с нормални стойности на витамин Д [130].

Препоръките за витамин Д внос също така са различни за Европа, Азия и САЩ [14, 137, 148]. Липсва единен консенсус в международен

мащаб за прием на витамин Д както при бременните, така и при новородените.

Канадското педиатрично дружество препоръчва внос от 200 до 400 IU/ дневно за всички бременни и кърмещи жени [222]. Препоръчаният дневен внос за новородените е **400-800 IU/ дневно**.

Ретроспективно през последните три ревизии на препоръките на **Американската академия на педиатрия /AAP/** се наблюдава повишаване на препоръчаните минимални дози за витамин Д при деца. През **2006г.** дневният прием на витамин Д е бил **200 IU**, през **2008** година дневната доза е завишена на **400 IU/дн.**

Комитетът по хранене на САЩ и Американската академия по педиатрия препоръчват **/2010 год./** за жените по време на бременността и лактация ежедневен прием на витамин Д от **600 IU/ дн.** за осигуряване на нормални нива [53, 148, 224]. При установяване на дефицит се препоръчват дози от 1,000 IU/ дн. за последният триместър или 100 000 IU в една доза в началото на последният триместър[148].

Института по медицина /ЛОМ/ през **2011**год. публикува препоръки за вноса на витамин Д при деца до 1 годишна възраст за доза от 400 IU/ дн., след 1 година- 600 IU/ дн. [174].

Abrams St., съвместно с AAP и Комитета по хранене в САЩ през **2013** год. за първи път съставят специфични препоръки за витамин Д вноса на калций и фосфор при предтерминно родените деца.

Препоръчва се рутинно скриниране на бихимичните костни маркери при всички новородени с тегло под 1500 грама от 4 постнатална седмица. Abrams посочва препоръчителна доза от **400 IU/ дн.** до горна граница от **1000 IU/ дн.** [9].

Hollis et al. 2011 год. публикуват данни от проучване относно витамин Д суплементацията по време на бременност при 490 жени. Като най - ефективна доза се препоръчва 4000 IU/ дн. [98].

В **Австралия** / Obstetrics and Midfery Guidelines Date revised April 2011 год./ се извършва скриниране на витамин Д статуса на всички бременни при първа визита при специалист. При установяване на дефицит лечението се провежда с витамин Д 5000 IU/ дн. успоредно с калций орално за 6-8 седмици, след което с подддържаща доза 1000 IU/ дн. до прекратяване на кърменето [184].

Европейското дружество за детска гастроентерология и хранене (**ESPGAN**) препоръчва за преждевременно родени деца доза от **800-1000 IU/дн. до 2,000 IU/ дн.** [14]. Според ESPGAN витамин Д в доза 400 IU/дн. е недостатъчна за предтерминно родените деца, като техните нужди са поне **3 пъти повече.**

Българското дружество по ендокринология предлага за бременни и кърмещи жени доза от най-малко **600 IU/дн,** като за достигане нива >30ng/ml дозата трябва да се завиши до 1500-2000 IU/дн [3].

Майчината кърма е с ниски концентрации на витамин Д /10-80 IU /L/ и отразява майчиният витамин Д внос [59]. През последните години нарастнаха проучвания за препоръчителните дневни дози за прием на витамин Д от кърмещи жени. Basile LA, Taylor SN, Wagner CL. в проучване от 2006 година в САЩ препоръчват по-високи дози витамин Д за жените от 2000 до 4000 IU/дн. Високите дози са по-ефективни за увеличаване на серумните нива на 25(OH)D при майките без доказателства за токсичност. При двойките майка-бебе се постига подобрен витамин Д статус и поддържане на нормални калциеви нива [27]. Полски колектив в контролирано, рандомизирано проучване MAVID обхващащо 174 здрави, кърмещи жени публикувано 2014 год. анализира, че доза от 400 IU/d не е достатъчна да поддържа нива над 20 ng/ml в периода на лактация и препоръчва по-ефективната доза от 1200 IU/дн. [57].

През последните години в нашата клиника нараства броя на майките, желаещи да осигурят кърма за храненето на своите недоносени

деца. На майките, осигурили кърма за децата от последното ни проучване /Проект №36/Гранд 2013 год./ бе препоръчван дневен прием на Д₃ от 2000 IU.

Дефицитът на витамин Д през бременността е сериозен здравен проблем засягащ майката и фетуса. Намалените нива на витамин Д при майката водят до намален трансплацентарен трансфер на витамин Д към плода и ограничени запаси след раждането [33]. Това води до по-високи нужди от витамин Д у недоносените деца, спрямо тези родени на термин. Осигуряването на оптимален внос е съществено за предотвратяване на дефицит, понижаване на риска за съпътстващи заболявания през бременността и бъдещи негативни последици у новороденото дете.

Изясняването на проблема би помогнало за изграждане на подходящо поведение към тази рискова група. На фона на увеличаващата се честота на преждевременни раждания и намаляващата раждаемост това би подобрило грижите и наблюдението на бременните жени и техните новородени.

5. Наши проучвания върху витамин Д обмяната при предтерминно родени деца в България

През последните четири години наши проучвания, провеждани в СБАЛАГ „Майчин дом” са посветени на проблема за дефицит на витамин Д при предтерминно родили жени и техните новородени с тегло под 1500 гр. Те обхващат жени родили преди 32 г.с. и респективно деца, които са лекувани в неонатално интензивно отделение. Резултатите показват известна тенденция към недостиг и дефицит на витамин Д, както при жените така и при децата. Данните са от едноцентрови проучвания проведени през периода 2011-2014 година и не могат да дадат цялостен облик на витамин Д статуса за този рисков контингент пациенти. Липват

национални статистически данни за разпространението на недостига на витамин Д при бременни жени и новородените деца.

През 2012г. проф. Анна-Мария Борисова и колектив представят мащабно мултицентрово проучване на Българското дружество по ендокринология относно витамин Д статуса на възрастното население в България. Разпространението на дефицит и недостатъчност на витамин Д сред изследваното население от различен тип населени места в България е значително. Общо 75,8% от изследваните 2032 лица са с поднормени нива на витамин Д. Като дефицитът е по-чест в женския пол от изследваната популация. Едва 24,2% от изследваните са с нормално ниво на витамин Д. В проучването са обхванати лица на възраст между 20-60 години като не са включени бременни жени [1, 2].

За детското население в България не е провеждано проучване относно витамин Д статуса.

В проучване на колектив СБАЛАГ „Майчин дом“ Клиника по Неонатология на тема „Профилактика, диагностика и лечение на неонаталната остеопения“ през 2011 година [проект № 71- Грант 2011] се анализира проблемът - Остеопения на недоносените. Проследени са 39 деца с тегло под 1500 гр. като е анализирана динамиката в нивата на костните биохимични показатели предсказващи риска от развитието на остеопения.

Отчетена е сигнификантна зависимост между серумните нива на витамин Д при майките и недоносените им деца, като 62,5% от майките и 69,2% от новородените са с поднормени нива на витамин Д. Дефицит е налице при 37% от майките, съответно 38,4% от децата, недостиг -25,5% майки и 30,8 %- деца. При 37,5% от жените и 30,8% от новородените витамин Д е в нормални нива.

Динамичното проследяване на в серумните нива на паратхормона, фосфора и витамин Д при децата за двумесечният период показва

сигнификантни корелации помежду им. Промените в биохимичните показатели /хиперпаратиреоидизъм и хипофосфатемия/ биха могли да прогнозираат риска от развитие на остеопения при недоносените.

Последвалите две проучвания за периода 2013-2014 год. отново са посветени на изследване на нивата на витамин Д при предтерминно родили жени и техните деца с тегло под 1500 грама. Анализирани са данни за начина на живот, хранене, заболяемост през бременността. Новородените с ниско и екстремно ниско тегло са проследени за двумесечен период по отношение на промени в нивата на Са, Р, АР, РТН и витамин Д, клинично протичане, заболяемост и изход. Тези две проучвания дават аналогични резултати: висока честота на витамин Д дефицит и недостатъчност при жените и техните предтерминно родени деца. По данни от проект №36/Грант 2013 - 91,5% от родилките имат поднормени нива на витамин Д като дефицитът е налице при 63% от всички пациентки. При децата са налице следните данни: 32% от недоносените са с дефицит, 49% с недостиг и едва 19% от децата са с нормален витамин Д [проект №36/Грант 2013].

На базата на тези проучвания може да се заключи, че витамин Д дефицита сред жените с рискова бременност и предтерминно родените деца е широко разпространен. Изследванията на двумесечна възраст, при част от децата не показват достигане на оптимално ниво на витамин Д в серума. Необходимо е рутинно изследване и адекватно профилактиране при тази рискова категория пациенти.

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ: Да се проследят в динамика нивата на витамин Д и биохимичните показатели на костен метаболизъм /общ и йонизиран калций, фосфор, алкална фосфатаза, паратхормон/ у новородени с ниско и екстремно ниско тегло, въз основа на което ще се оптимизира витамин

Д профилактиката и предотврати развитието на остеопения на недоносеното дете.

За постигането на целта си поставихме следните задачи:

1. Да се изследват серумни нива на витамин Д на бременни жени родили преди 32 г.с. и на техните новородени с тегло под 1500 грама и се потърси корелация помежду им.
2. Да се потърси връзка между майчините нива на витамин Д при раждането и някои усложнения на бременността /инфекции, прееклампсия, гестационен диабет и др./
3. Да се потърси сезонна зависимост между серумните концентрации на витамин Д в майчината кръв и в пъпната връв при раждането.
4. Да се изследват нивата на витамин Д на децата на 8 седмична възраст.
5. Да се проследят в динамика до навършване на 8 седмична възраст на децата следните биохимичните маркери за костен метаболизъм - общ и йонизиран калций / Ca и Ca⁺⁺ /, серумен фосфор /P/, серумна алкална фосфатаза /AP/, паратхормон /PTH/ и се съпоставят с нивата на витамин Д на осма седмица.
6. Да се проследят децата по основните клиничко-терапевтични показатели и се потърси връзка между нивата на витамин Д при раждане и следните хронични неонатални заболявания- БПД и остеопения на недоносеното.
7. Да се предложи скрининг и профилактика с витамин Д на жените с рискова бременност.
8. Да се изработи алгоритъм за проследяване на витамин Д статуса и калциево-фосфорната обмяна при предтерминно родените деца с цел оптимизиране на постнаталният му внос и превенция на остеопения.

IV. ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

1. КЛИНИЧНИ КОНТИНГЕНТИ

Изследваните контингенти обхващат жени, родили преди 32 г.с. и техните живородени деца, лекувани в НИО на СБАЛАГ “Майчин дом” за периода от 13.09.2011год. до 20.01.14год., отговарящи на следните критерии:

Критерии за включване – майки

Жени, родили преди 32 г.с. в Родилна клиника на СБАЛАГ “Майчин дом” за посоченият период.

Критерии за включване –новородени

- тегло при раждането под 1500g
- гестационна възраст \leq 32 г.с.

Критерии за изключване-новородени

Новородените с летални вродени аномалии

Новородени след прекъсване на бременността в късен срок по медицински показания

На базата на тези критерии са обхванати 111 предтерминно родили жени и 129 техните новородени.

Въз основа на серумните нива на витамин Д при раждането жените са разпределени в следните три групи [96,97]:

I група: Препоръчителни нормални нива >30 ng/ml

II група: Недостатъчност при нива 21-29 ng/ml

III група: Дефицит при нива <20 ng/ml

На базата на майчините стартови нива, новородените също са разпределени в три групи, които се проследени в динамика до навършване на осемседмична възраст.

- I гр. новородени на майки с препоръчителни нормални нива
- II гр. новородени на майки с недостатъчни нива
- III гр. новородени на майки с дефицит

2. ИЗСЛЕДОВАТЕЛСКИ МЕТОДИ

Проучването е проспективно. За всеки пациент са попълвани индивидуални протоколи, разработени за целите на проучването приложение 1 /майки/ и приложение 2 /новородени/.

2. 1. Клинични и лабораторни методи

А. Оценка на перинаталните данни въз основа на данни от анкетна карта попълнена от родилката, анамнеза, история на раждането, клиничен преглед на новороденото .

- Анкетна карта на бременната жена - съдържа социо- демографски данни – възраст, паритет, образование, трудова заетост, семейно положение и други фактори като: хранене, пренатална употреба на мултивитаминни препарати, влиянието на екзогенни фактори - сезон, употреба на кремове със слънцезащитни фактори.
- Анамнестични данни от история на заболяване
- Заболявания на майката преди и по време на бременността
- Установена инфекция при майката като: преждевременно пукнат околоплоден мехур, левкоцитоза над $15 \times 10^9/l$, повишен С реактивен протеин над 5 mg/dl, фебрилитет при раждане, микробиологично доказана бактериурия, цервико-вагинална инфекция с патогенни влагалищни микроорганизми [6, 82, 110, 163, 214, 230].
- Прееклампсия - хипертензивно заболяване свързано с бременността, диагностицирано с повишение на артериалното налягане (140/90 mmHg) и протеинурия (300 mg/24 h) след 20 г.с.[10,29].

- Гестационен диабет се определя като всяко нарушение на глюкозният толеранс с начало или първа изява през бременността [18].
- Кортикостероидна профилактика на белодробната зрелост. Оценява се като завършена при проведен пълен курс на лечение /четири апликации по схема на препарата Flosteron/ преди раждане, незавършена – при непълен курс и липсваща.
- Многоплодна бременност
- Интраутеринна ретардация
- Начин на родоразрешение

На жените е взета чрез венепункция венозна кръв за изследване на ниво на витамин Д в хода на раждане, като след центрофугиране е замразена при -20° до изследването ѝ.

Б. Данни за новородените

- Анализ на децата по отношение на: пол, тегло при раждане, хронологична гестационна възраст /по данни от последна редовна менструация/, заболяемост, болничен престой и изход при изписване.

В зависимост от изхода при изписване децата биват- здрави изписани без усложнения, изписани с усложнения и починали. Деца изписани с едно или повече от следните заболявания, имащи отношение към витамин Д обмяната: бронхо-пулмонална дисплазия (БПД) и остеопения.

За децата се проследяват:

Изследване на ниво на витамин Д в кръв от пъпна връв. Кръвта е взета незабавно след клампирането на пъпната връв, чрез пункция на пъпните съдове в контейнер със сепариращ гел. След центрофугиране е замразена при -20° до изследването ѝ.

До 72 час след раждането от венозна кръв на децата са изследвани - изходни стойности на общ и йонизиран Са, Р, АР, тотален протеин.

Показателите общ Са, Р, АР, РТН са изследвани от венозна кръв, взета чрез венепункция сутрин в 9 часа и насочена веднага за изследване в клинична лаборатория. Йонизираният калций е изследван по микрокръвен метод на капилярна кръв, взета сутрин в 10 часа и изработена веднага.

Динамично се проследяват на 2, 4, 6 и 8 седмица следните показатели- общ и йонизиран Са, Р, АР, тотален протеин.

На 2 и 8 седмица след раждането се изследват нива на паратхормон. Веднага след раждането се наблюдава стръмно покачване на РТН, поради физиологичната хипокалциемия. До 10 постнатален ден РТН се възстановява до еутиреоидни нива, с оглед това изследването му на 2 седмица е показателно като изходно стартово ниво [180].

На 8 седмица е изследвана втора проба за ниво на витамин Д. Пробата е взета от венозна кръв чрез венепункция в контейнер със сепариращ гел в 9 часа сутринта при навършена 8 постнатална седмица. След взимането е центрофугирана и замразена при -20° до изследването и.

При всички деца за периода на проучването се проследяват:

- продължителност на апаратна вентилация
- продължителност на кислородотерапия и нужда от подаване на кислород повече от 28 дни
- медикаментозно лечение /кортикостероидни курсове, диуретици/
- продължителност на тотално и допълващо парентерално хранене, начало и динамика на ентералното хранене
- начало и дозировка на витамин Д

Маркерите за костен метаболизъм на новородените се проследяват динамично според следната таблица 1.

Таблица 1.

| | раждане | 0-3 ден | 2сед. | 4сед. | 6сед. | 8сед. |
|------------------------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|
| Вит. Д | + | | | | | + |
| Са общ | | + | + | + | + | + |
| Са⁺⁺ | | + | + | + | + | + |
| Р | | + | + | + | + | + |
| АР | | + | + | + | + | + |
| О Б | | + | + | + | + | + |
| РТН | | | + | | | + |

2. 2. Лабораторни методи

Параклиничните изследвания са извършени в клинична лаборатория на СБАЛАГ „Майчин дом”, МДЛ „Бодимед-99” ООД и лаборатория Цибалаб.

ВИТАМИН Д - 25(ОН)D

Изследване - Медико-диагностична лаборатория „Бодимед-99” ООД /на основание Договор сключен между СБАЛАГ „Майчин дом” и „Бодимед” за периода на проучването/.

Методика - електрохемилюминисцентен имуноанализ „ECLIA”.

Определят се количествено нивата на 25(ОН)D в серум от пациентите. Двуетапен процес, при който се изследва концентрацията на витамин Д на базата на конкуренция с биотин свързан - витамин Д моноклонален рутенийев комплекс, с последващо оцветяване в твърда фаза със стрептавидин.

Апарат - Автоматичен имунологичен анализатор „Elecsys 2010”

Референтни граници

- Препоръчителни нормални нива **>30ng/ml**

- Недостатъчност при нива **21-29ng/ml**
- Дефицит при нива **<20 ng/ml**

ПАРАТХОРМОН - РТН

Изследване - Лаборатория Цибалаб

Методика - електрохемилюминисцентен имунологичен анализ „ECLIA”.

Методът представлява имунохимичен анализ, който използва биотинилирано моноклонално РТН - специфично антитяло и моноклонално РТН антитяло, белязано с рутениев комплекс. След взаимодействие се образува сандвичев комплекс. Този комплекс се свързва с твърдата фаза след добавяне на микрочастици покрити със стрептавидин. При прилагане на напрежение, предизвиканата хемилюминисценция се измерва с фотумножител.

Апарат-Автоматичен имунологичен анализатор „Elecsys 2012”

Референтни граници

Паратхормон - **15-65 pg/ml.**

Повишени нива на РТН **> 65 pg/ml**, изразено повишение **>100 pg/ml.**

МИНЕРАЛИ

Калций /общ и йонизиран/ и **фосфор**

Изследване - Клинична лаборатория на СБАЛАГ „Майчин дом“

Методика - **Общ калций** - фотометричен тест с използване на арсеназо III. Калцият в неутрална среда образува с арсеназо III синьо оцветен комплекс, чийто интензитет е пропорционален на концентрацията на калция в серума. Апарат - Автоматичен клинично-химичен анализатор „Prestige 24i”.

Референтни граници:

Общ калций - 2,25-2,6 mmol/l.

Йонизиран калций - директно измерване на йонната активност на Ca ++ с йонноселективни електроди. Апарат - автоматичен кръвно-газов анализатор „Rapid Lab 348”.

Референтни граници Йонизиран калций - **1,1-1,36 mmol/L**.

Фосфор /неорганичен фосфат/ - P

Изследване - Клинична лаборатория на СБАЛАГ „Майчин дом”

Методика – Директна фосфомолибденова реакция без депро-теинизация. Метода е колориметричен с фосфомолибденова киселина: фосфатните йони реагират с молибдат в кисела среда и образуват син фосфомолибденов комплекс. Концентрацията на фосфата е пропорционална на интензитета на цветния комплекс.

Апарат - Автоматичен анализатор „Prestige 24i”.

Референтни граници Фосфор - **1,6-2,4 mmol/L**

Понижени нива под 1,6 mmol/L, изразен понижение при фосфор под 1,1 mmol/L .

АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА

Изследване - Клинична лаборатория „Майчин дом”

Методика– Кинетичен метод основаващ се на ензимна хидролиза в алкална среда (pH10,5) на субстрата пара-нитрофенилфосфат до фосфати и 4-нитрофенол. 4-нитрофенолът има лимоненожълта оцветка, която се фотометрира при 405nm. Активността на алкалната фосфатаза е пропорционална на интензитета на оцветката.

Апарат - Автоматичен клинично-химичен анализатор „Prestige 24i”.

Референтни граници

AP от ден 10 до ден 30 след раждането **110-406 U/L**.

Повишени нива > 500 U/L.

Проследяваме децата в два интервала на повишаване на показателя - при нива на AP от 500 до 800 и при нива над 800 U/L.

ТОТАЛЕН ПРОТЕИН

Изследване - Клинична лаборатория на СБАЛАГ „Майчин дом”

Методика - унифициран колориметричен метод на базата на биуретова реакция. Образуване в алкална среда на виолетово оцветен комплекс между белтъците и купройони (Cu^{++}) . Апарат- Автоматичен клинично-химичен анализатор „Prestige 24i”.

Референтни граници

| | | |
|------------------------------|---------------|-----------|
| Преждевременно родени деца - | 1 ден | 34-50 g/l |
| | 2 ден - 2мес. | 46-68 g/l |

ДАННИ ЗА ИЗХОДА:

- Преживяемост до изписването
- Хронични заболявания:
 - Бронхо-пулмонална дисплазия (БПД/ ХББ), дефинирана при кислородозависимост на 28 ден от живота, с определяне на степента на тежест според нуждите от кислород и/или апаратна вентилация на 36 г.с.
 - Остеопения на недоносеното
 - Продължителност на болничния престой в дни

2. 3. Статистически методи

Данните са въведени и обработени със статистически пакет SPSS – SPSS for Windows 13.0. Приложени са следните методи:

А. Описателни методи и методи за оценка

1. Вариационен анализ на количествени променливи – средна стойност, стандартно отклонение, минимум, максимум .

2. Честотен анализ на качествени променливи (номинални и рангови), който включва абсолютни честоти, относителни честоти (в проценти), кумулативни относителни честоти (в проценти)

3. Графични изображения.

Б. Методи за проверка на хипотези

1. Непараметрични методи

1.1 **Методи на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уйлк (Shapiro-Wilk)** – проверка за нормалност на разпределението на количествена променлива

1. 2 **Метод хи-квадрат (Chi-square test)** или точен тест на Фишер (Fisher's exact test) – търсене на връзка между две качествени променливи.

1. 3 **Метод на Крускал-Уолис (Kruskal-Wallis)** – сравняване на повече от две групи на една количествена променлива, когато разпределението не е нормално

В. Корелационен анализ

1. Непараметричен коефициент на линейна корелация – **Спирман.**

Г. Регресионен анализ

1. Линеен регресионен анализ - връзка между количествена зависима променлива и множество независими количествени променливи.

Използваното от нас критично ниво на значимост е $\alpha = 0.05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато Р стойността (P-value) е по-малка α [76, 102, 111, 132].

V. РЕЗУЛТАТИ

1. ХАРАКТЕРИСТИКА НА ИЗСЛЕДВАНИТЕ КОНТИНГЕНТИ

Проучването обхваща **111** жени родили преди **32 г.с.** и техните **129** новородени с тегло при раждане **под 1500 гр.** Децата са родени в СБАЛАГ “Майчин дом” и преведени в НИО между 5-та и 10-та минута от живота.

Въз основа на серумните нива на витамин Д при раждането жените са разпределени в три групи [96, 97].

I група: Препоръчителни нормални нива $>30\text{ng/ml}$

II група: Недостатъчност при нива $21\text{-}29\text{ ng/ml}$

III група: Дефицит при нива $<20\text{ ng/ml}$

На базата на майчините нива, техните новородените също са разпределени в три групи. Децата са проследени от раждането до навършване на осемседмична възраст.

- I гр. новородени на майки с препоръчителни нормални нива
- II гр. новородени на майки с недостатъчни нива
- III гр. новородени на майки с дефицит

1.1. Социо-демографски характеристики и анализ на заболеваемостта на майките

- Изследваните **111** жени са със **средна възраст 30,45 год. \pm 5,89 (13-44 г.)**.
- **Паритет:**
 - примипари **82 (73,9%)**,
 - мултипари **29 (26,1%)**
- **Асистирана репродукция има при 24 родилки (21,62%)**.
- **Начин на родоразрешение (Фиг. 3):**
 - Цезарово сечение - **71 жени (64 %)**
 - Предтерминно раждане по вагинален път - **40 жени (36%)**

Фигура 3. Процентно разпределение по механизъм на раждане



В анкетата пациентките отговарят на следните социо-демографски въпроси: образование, трудова заетост, семейно положение, начин на обличане, употреба на слънцезащитна козметика.

Социалният статус на нашите пациентки показва следното разпределение:

Образование

N =111

| | |
|------------|-------------|
| Неграмотна | 1 (0,90%) |
| Начално | 9 (8,10%) |
| Основно | 1 (0,90%) |
| Средно | 43 (38,73%) |
| Висше | 57 (51,35%) |

Трудова заетост

| | |
|------------|-------------|
| Работещи | 86 (77,47%) |
| Безработни | 25 (22,52%) |

Семейно положение

| | |
|-----------|-------------|
| Омъжени | 50 (45,04%) |
| Неомъжени | 61 (54,95%) |

Облеклото на жените е типично и съобразно сезоните в България.

Анкетата на майките включва и следните въпроси: начин на хранене, прием на мултивитаминни препарати през бременността, използване на слънцезащитни кремове.

За **достатъчен прием** на храни, богати на витамин Д (мляко - поне по 200 ml, млечни произведения, риба, яйца) съобщават **93** жени: средно по 4-7 пъти. **Намалена** е консумацията при **16** от анкетираните: 1-3 пъти седмично. **2** от бременните **не** консумират изобщо храни от животински произход (вегетарианки).

Мултивитаминните препарати, препоръчвани за бременни жени, съдържат стандартно **400 витамин Д UI /дн /таблица 2/**. От получените данни само **50** от пациентките са приемали редовно, повече от 1 месец комбинирани препарати, съдържащи витамин Д, **19** жени съобщават за нередовен прием /по- малко от 1 месец за цялата бременност/, а **42** - не са приемали изобщо такива препарати.

Нито една от пациентките **не** е приемала самостоятелно витамин Д.

Таблица 2. Обобщен вид на хранително-диетичния режим на майките

| Хранене на бременните | N=111 Брой / (%) | Мултивитаминни препарати | 400 UI/дн вит. Д Брой / (%) |
|--|-----------------------------|---------------------------------|--|
| Достатъчен прием на храни, богати на вит Д | 93 (83,8%) | Редовно >1мес. | 50 (45 %) |
| Недостатъчен прием | 16 (14,4%) | Нередовно <1мес. | 19 (17 %) |
| Вегетарианки | 2 (1,8 %) | Неприемали | 42 (38 %) |

Таблица 3. Разпределение на средните нива на витамин Д в зависимост от приема на бременните на мултивитаминни препарати.

| Мултивитамици | N | Mean | Median | Min | Max | SD |
|-------------------|-----|----------------|---------|------|-------|----------|
| Редовно >1мес | 50 | 20,5820 | 19,1000 | 5,10 | 69,06 | 12,18753 |
| Нередовно <1 мес. | 19 | 14,4674 | 12,3000 | 3,00 | 31,96 | 9,57177 |
| Неприемали | 42 | 15,6874 | 13,4500 | 3,00 | 47,90 | 11,35134 |
| Общо | 111 | 17,6833 | 15,4000 | 3,00 | 69,06 | 11,67527 |

* P<0,05

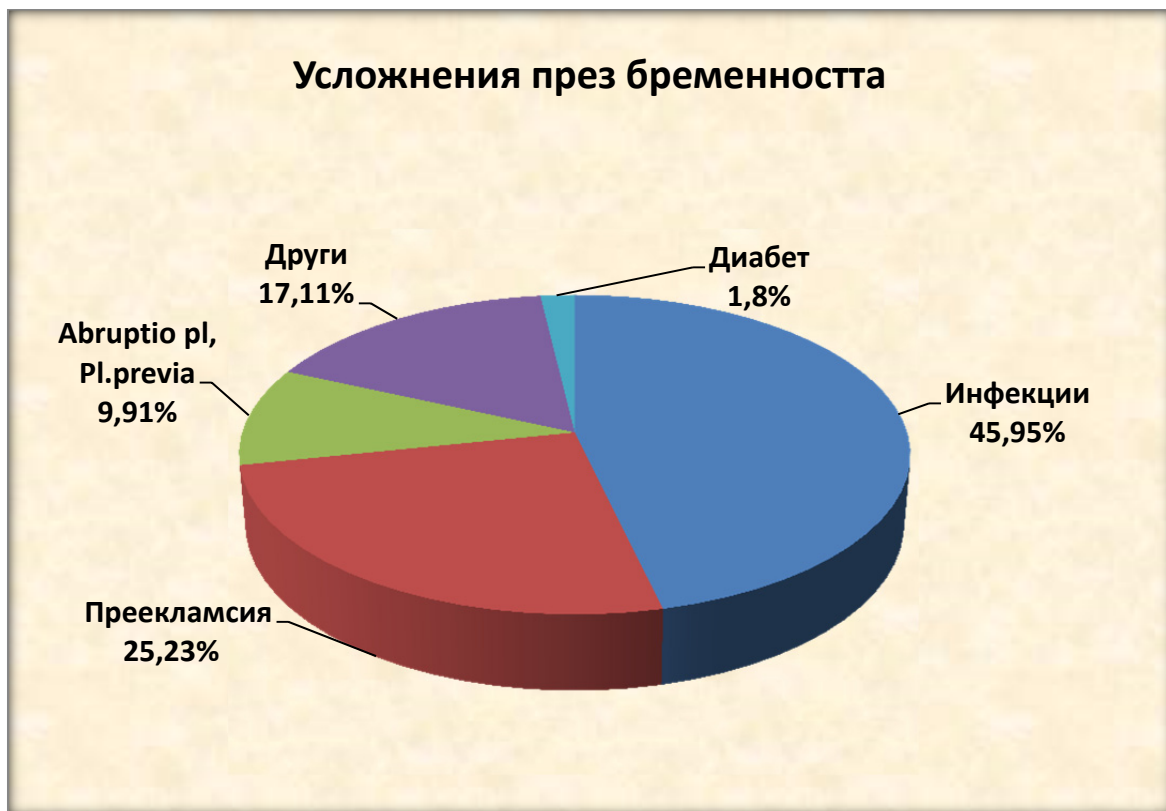
Установява се, че средните нива на витамин Д при жените приемали мултивитаминни препарати повече от 1 месец през бременността са леко по-високи спрямо останалите. Статистическият анализ чрез теста на Крускал-Уолис (P=0,012) и Post-hoc тестът на Dunn показва статистически значима разлика в стойностите на витамин Д между групата на приемали и групата на неприемали, както и между групите с нередовен прием (под 1 месец) и неприемалите (P<0,05).

Слънцезащитни кремове (с UV фактор 30-50) са употребили **31(27,92%)** от анкетираните, като това са основно жени със светъл тип кожа през летните месеци на проучването (юни-август).

Бременните от асистирана репродукция (**21,62%**) съобщават за постелен режим през цялата бременност (т.е. без излагане на откритите части на тялото на слънце).

Данните за заболяемост при бременните са следните (фиг. 4): инфекции - **45,95%**, пreeклампсия - **25,23%**, плацентарна патология (абрупцио плаценте, плацента превия) - **9,91%**, диабет - **1,8%**, други усложнения - **17,11%** (неповлияване от токолитична терапия, мониторинг данни за фетално страдание, тромбофилия, две родоразрешения поради фетус мортус на единият близък и др).

Фигура 4. Графично изображение на заболеваемостта



На първо място по честота са жените с установена инфекция като причина за предтерминно раждане, следващата по големина е групата на жени с преeklамсия. В нашето проучване има едва две жени с гестационен диабет придружен с развитието на хидрамнион и последвало предтерминно раждане. Поради малкият брой участници в тази група, тя не би могла да участва в сравнения между останалите групи.

Статистическият анализ чрез тестът на Крускал-Уолис ($P=0,025$) и Post-hoch тестът на Dunn по отношение на стойностите на витамин Д, показва статистически значима разлика ($P<0,05$) между групите на майки с преeklамсия и тези с инфекция, както и между групата на майките с преeklамсия и групата на жени с други заболявания (табл.4).

Таблица 4. Разпределение на средните нива на майчин витамин Д спрямо отделните групите заболявания

| Заболяване | N | Mean | Med. | Min. | Max. | S.D |
|---------------------|-----|----------------|---------|------|-------|----------|
| 1. Инфекция | 51 | 18,9837 | 17,2000 | 3,00 | 54,84 | 11,31043 |
| 2.Прееклампсия | 28 | 13,8075 | 10,4500 | 3,00 | 69,06 | 12,92486 |
| 3. Други | 19 | 20,1633 | 20,5500 | 3,00 | 47,90 | 10,44973 |
| 4.Abrupio/Pl.previa | 11 | 17,9482 | 16,6800 | 3,00 | 37,51 | 12,17966 |
| 5. Диабет | 2 | 13,3000 | 13,3000 | 7,00 | 19,60 | 8,90955 |
| Общо | 111 | 17,6523 | 15,1000 | 3,00 | 69,06 | 11,72410 |

* P<0,05

1.2. Характеристика и заболеваемост при новородените

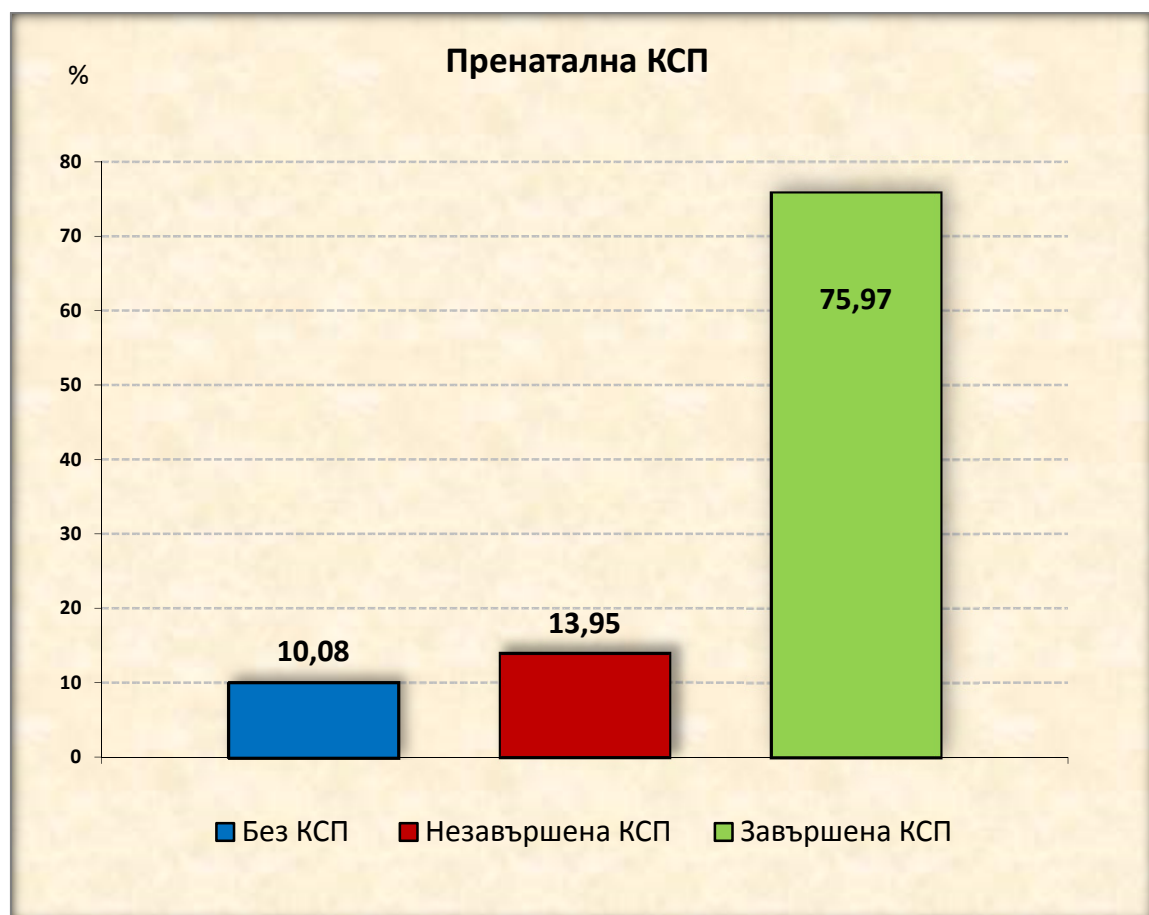
Изследвани са **129** предтерминно родени деца (от тях бигемини - 14 двойки и тригемини - 2 тройки).

Данните за перинаталните характеристики на новородените, са представени като средна стойност (с интервал в скобите) \pm SD (стандартно отклонение) или като брой и % (в скобите) и Sp (стандартна грешка). Разпределението показва следното:

| Характеристика | Средна стойност | SD/ Sp |
|--|--------------------------|---------------|
| • Тегло (g) | 1081,47(450-1500) | \pm 258,554 |
| • Гестационна възраст (г.с.) | 29,10(24-32) | \pm 2,197 |
| • Пол | 59 (45,74%) момчета | 0,044 |
| | 70 (54,26%) момичета | 0,044 |
| ИУР | \leq 10% 7 деца (5,4%) | |
| | \leq 3% 10 деца (7,8%) | |
| • Пренатална кортикостероидна профилактика (КСП) – Фиг. 5. | | |
| - Завършена | 98 (75,97%) | 0,038 |
| - Незавършена | 18 (13,95%) | 0,031 |
| - Липсва | 13 (10,08%) | 0,027 |
| • Среден болничен престой (дни) | 54,68 (13-133) | \pm 20,98 |

При преобладаваща част от децата **75,97%** е проведена пренатална кортикостероидна профилактика на белодробната зрелост. При едва **10,08%** от децата тя липсва. На фигура 5 сме представили графично изображение на КСП. Прилагането на пренатални КС е един от основните фактори за повишане на преживяемостта на VLBW и ELBW, и утвърдена част от активното акушерско поведение.

Фигура 5. Честотно разпределение според пренаталната кортикостероидна профилактика (КСП)



На **таблица 5** е представено разпределението на децата според теглото при раждане, гестационна възраст и среден болничен престой. Данните са сходни при двата пола. Не се установяват статистически значими различия за посочените показатели между двата пола.

Таблица 5. Разпределение на децата според пол, тегло, гестационна възраст и болничен престой.

| Пол | | Тегло при раждане (g) | Гест.седм. | Среден престой (дни) |
|-----------------|----------------|-----------------------|------------|----------------------|
| момчета | N | 59 | 59 | 59 |
| | Mean | 1098,64 | 29,34 | 54,07 |
| | Median | 1100,00 | 29,00 | 49,00 |
| | Minimum | 500 | 24 | 13 |
| | Maximum | 1500 | 32 | 133 |
| | Std. Deviation | 279,176 | 2,302 | 21,777 |
| момичета | N | 70 | 70 | 70 |
| | Mean | 1067,00 | 28,90 | 55,20 |
| | Median | 1050,00 | 29,00 | 49,50 |
| | Minimum | 450 | 24 | 26 |
| | Maximum | 1480 | 32 | 124 |
| | Std. Deviation | 240,900 | 2,100 | 20,445 |
| общо | N | 129 | 129 | 129 |
| | Mean | 1081,47 | 29,10 | 54,68 |
| | Median | 1100,00 | 29,00 | 49,00 |
| | Minimum | 450 | 24 | 13 |
| | Maximum | 1500 | 32 | 133 |
| | Std. Deviation | 258,554 | 2,197 | 18,713 |

1. 3. КЛИНИЧЕН ИЗХОД

В края на проучването от първоначалните **129** деца, контролните изследвания на 8 седмица са проведени при **117** деца. Липсата на изследвания на 8 седмица при 12 от първоначално обхванатите деца се дължи на: 6 починали деца, 1 дете преведено за хирургично лечение над 28 ден и 5 деца изписани от клиниката, но неявили се на контролен преглед на 8 седмична възраст.

Изходът е категоризиран като: клинично здрави изписани деца, починали, преведени в други болници и деца изписани с усложнения. За целите на проучването са взети хроничните заболявания имащи отношение към обмяната на витамин Д, и водещи до трайна заболеваемост - тежка бронхопулмонална дисплазия, остеопения.

Диагнозата **бронхопулмонална дисплазия** е поставена въз основата на международно приетата дефиниция: като кислородозависимост на 28 дневна възраст. Степента на тежест се определя според кислородните нужди на 36 г.с. като: лека –без нужда от допълнителен кислород, средно тежка с необходимост от кислородни концентрации 21-30% и тежка при нужда от кислородод >30% и /или подпомагане на дишането чрез СРАР или апаратна вентилация [67]. За нуждите на настоящото проучване се обсъждат средно тежката и тежка форма на БПД, т.е. децата, които остават кислородозависими на 36 г.с.

| | | |
|---|---------|-------|
| • Клинично здрави деца | 75 деца | 64,1% |
| • Починали | 6 деца | 5,1% |
| • Заболеваемост | | |
| • БПД (O ₂ -зависимост на36г.с.) | 38 деца | 30,4% |
| 1. гр. Деца със средно тежка форма на БПД O ₂ <30% | 31деца | 24,8% |
| 2. гр. Деца с тежка форма на БПД O ₂ >30% | 7 деца | 5,68% |

При всички новородени се започва тотално парентерално хранене с включен Са в състава на инфузиите катоСа gluconici 10%, стартиращо от 1^{-я} час на живота. Ентералното хранене стартира в следващите 48-72час след раждане с хидролизатна формула за недоносени деца. Витамин Д суплементацията е със средно начало на 21 постнатален ден като при 34 от децата витамин Д₃ е в доза 667 IU/дн., при 95 деца в доза 1334 IU/дн.

Витамин Д се дава директно в устната кухина, сутрин, без допълнително мляко.

Той е мастноразтворим витамин и може да се свързва към повърхността на сондите. Използван е препарат – Холекалциферол Д₃ (Вигантол), разтвор перорални капки (1 капка - 667 IU).

Децата са хранени с формула за недоносени, в състава на която има: Витамин Д₃ – 100 IU/100ml, Са - 100 mg/100ml, Р - 55 mg/100ml.

При 22 деца ентералното хранене се провежда с обогатена кърма /Aptamil FMS, Nestle FM 85 / средно от 26 постнатален ден.

2. ВИТАМИН Д СТАТУС НА ГРУПИТЕ ПАЦИЕНТИ

Витамин Д статуса [96, 97] при майките и техните новородени се дефинира спрямо следните нива на витамин Д като:

I група: Препоръчителни нормални нива >30 ng/ml

II група: Недостатъчност при нива 21-29 ng/ml

III група: Дефицит при нива <20 ng/ml

2.1. Анализ на серумните нива на витамин Д при майките

Майките са разделени на **3** групи спрямо изходните им нива на витамин Д (препоръчителни, недостиг и дефицит). Получените резултати са представени на **таблица 6**. Установяваме, че **85,59%** от майките са с поднормени нива на витамин Д към раждането, като дефицитът е налице при **65,77%** от всички жени. При **19,82 %** от жените е налице недостиг на витамин Д. Едва при **14,41%** от родилки нивата на витамин Д са в референтни граници.

Таблица 6. Разпределение на майките по групи спрямо серумните нива на витамин Д - 25(OH)D

| Групи на майки | N | % | Mean Vit D ng/ml | Median | Minimum | Maximum | Std. Dev. |
|--------------------------|-----|--------|------------------|---------|---------|---------|-----------|
| I гр. > 30 нормални нива | 16 | 14,41% | 39,3369 | 36,4900 | 30,10 | 69,06 | 10,46999 |
| II гр. 21 - 29 недостиг | 22 | 19,82% | 23,6627 | 22,7500 | 20,00 | 28,51 | 2,82179 |
| III гр. < 20 дефицит | 73 | 65,77% | 11,1353 | 10,5000 | 3,00 | 19,90 | 4,95009 |
| Общо | 111 | | 17,6833 | 15,4000 | 3,00 | 69,06 | 11,67527 |

2. 2. Анализ на серумните нива на витамин Д от пълна връв при новородените

Майчиният витамин Д статус е основен и важен фактор за стартовите нива при новороденото /пълна връв/. На базата на тази информация са разделени съответно и техните новородени на три групи.

- I гр. новородени на майки с препоръчителни нормални нива
- II гр. новородени на майки с недостатъчни нива
- III гр. новородени на майки с дефицит

От данните в **табл.7** става ясно, че новородените на майки с витамин Д дефицит (**65,77%**) имат сходен дефицит при раждане **25(OH)D < 20 ng/ml - 50,4%** от децата със средни нива на витамин Д **10,80±3,00ng/ml**.

При раждането децата на майките с нормални витамин Д нива и на майките с недостатъчни нива показват стойности на витамин Д близки до майчините. Само **18,6%** от новородените са с нормални серумни резултати за витамин Д.

Таблица 7. Нива на витамин Д от пъпна връв при новородените в ng/ml

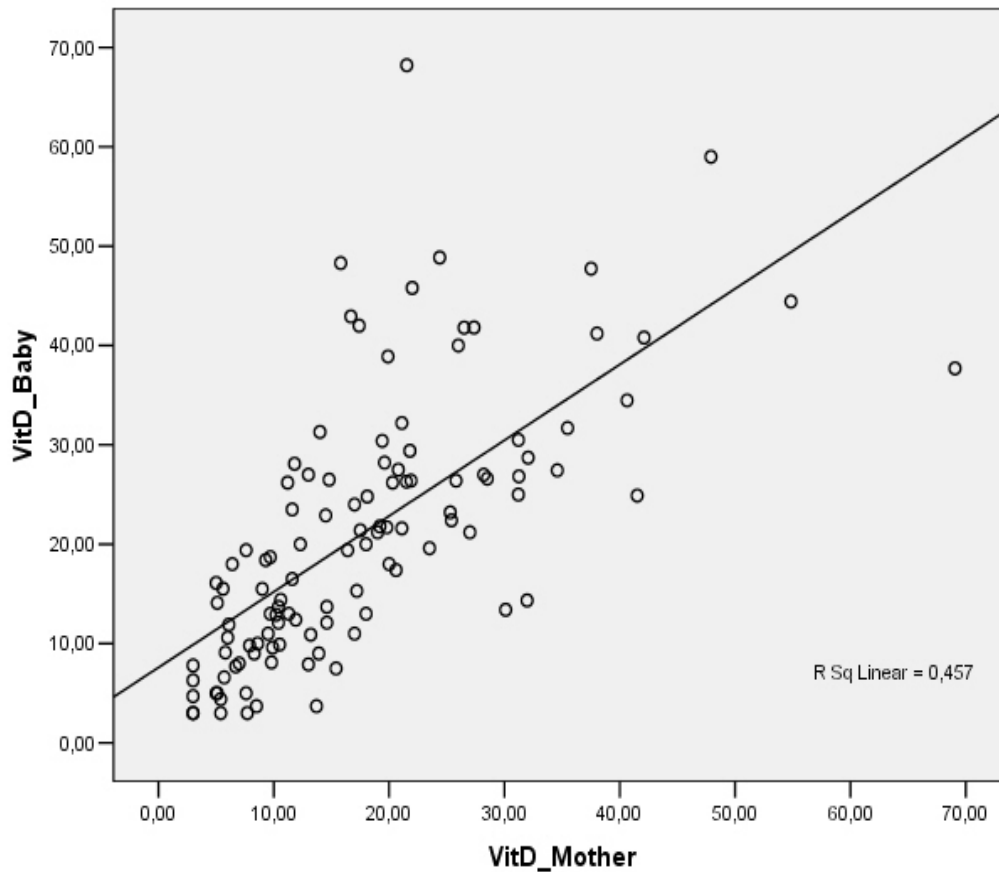
| Групи новородени | N | % | Mean | Median | Min | Max | Std. Dev. |
|--------------------------|-----|-------|---------|---------|-------|-------|-----------|
| I гр. > 30 нормални нива | 24 | 18,6% | 41,1746 | 41,0050 | 30,01 | 68,22 | 9,17 |
| II гр. 21 - 29 недостиг | 40 | 31,0% | 25,0545 | 25,8650 | 20,00 | 30,00 | 2,81 |
| III гр. < 20 дефицит | 65 | 50,4% | 10,8025 | 10,9000 | 3,00 | 19,60 | 4,69 |
| Общо | 129 | 100% | 20,8723 | 19,6000 | 3,00 | 68,22 | 12,75 |

Статистическият анализ не установява корелации между нивата на витамин Д при раждане, теглото и гестационната възраст.

2.3. Корелация

Потърси се и се установи статистически значима, положителна корелационна зависимост между серумните нива на витамин Д на майките и нивата от пъпна връв при новороденото (непараметричен коефициент на корелация на Спирман - 0,775) ($P < 0,0001$). Това правопрпорционално отношение между двете величини показва, че ниски серумни нива на майките водят до ниски серумни нива при новороденото. Това потвърждава твърдението, че майчиният витамин Д статус е изцяло отговорен за неонаталния статус и осигурява детето през първият месец от живота. Графичен израз на корелацията е представен на фигура 6.

Фигура 6. Зависимост между нивата на витамин Д при майките и тези от пъпна връв при новороденото –диаграма на разсейването



2.4. Сезонна динамика на витамин Д в изследваната популация

Проуването обхваща четирите годишни сезона в България. На следващата таблица са представени средните стойности на витамин Д при майките и новородените (пъпна връв) в зависимост от сезона на раждане. Най-ниски са нивата през пролетта и зимата, т.е. сезоните с най-малко слънцегреене. През лятото и есента поради повишена кожна синтеза на витамин Д, серумните му нива са по- високи при майките. Тези по-високи стойности респективно водят до повишени нива у новородените.

Таблица 8. Анализ на нивата на витамин Д в изследвани двойки по сезони.

| Сезон | | Витамин Д майки ng/ml | ВитаминД пълна връв ng/ml |
|-----------------|----------------|--------------------------|------------------------------|
| 1 Пролет | N | 32 | 36 |
| | Mean | 9,6750 | 11,7500 |
| | Median | 8,4000 | 9,8000 |
| | Minimum | 3,00 | 3,00 |
| | Maximum | 20,80 | 42,00 |
| | Std. Deviation | 5,29510 | 8,28705 |
| 2 Лято | N | 24 | 25 |
| | Mean | 17,8708 | 23,0520 |
| | Median | 16,1000 | 21,2000 |
| | Minimum | 6,70 | 7,70 |
| | Maximum | 47,90 | 59,00 |
| | Std. Deviation | 9,04013 | 11,89965 |
| 3 Есен | N | 45 | 56 |
| | Mean | 24,4148 | 27,4769 |
| | Median | 22,7500 | 26,4000 |
| | Minimum | 5,00 | 5,00 |
| | Maximum | 69,06 | 68,22 |
| | Std. Deviation | 13,42676 | 12,32914 |
| 4 Зима | N | 10 | 12 |
| | Mean | 13,5600 | 13,2583 |
| | Median | 15,0000 | 11,5000 |
| | Minimum | 5,00 | 5,00 |
| | Maximum | 20,00 | 27,00 |
| | Std. Deviation | 5,44185 | 7,47146 |
| Общо | N | 111 | 129 |
| | Mean | 17,7123 | 20,8565 |
| | Median | 15,6000 | 19,5000 |
| | Minimum | 3,00 | 3,00 |
| | Maximum | 69,06 | 68,22 |
| | Std. Deviation | 11,72470 | 12,80806 |

Разпределението на извадката по сезони не е хомогенно: най-голям брой изследвани двойки майка-бебе има през сезоните пролет и есен. Най-малък е броя на изследваните пациенти през сезон зима (фиг. 7).

Фигура 7. Графичен израз на разпределението на пациентите по сезони



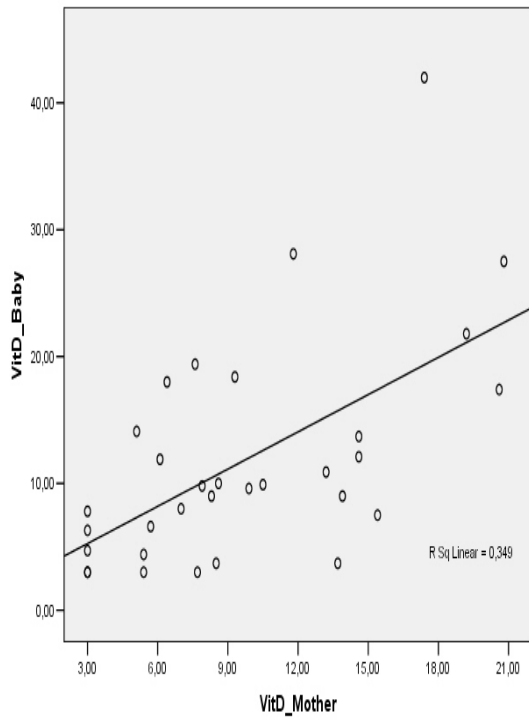
Потърсихме съществува ли сезонна зависимост между серумните концентрации на витамин Д в майчина кръв и в пълна връв при раждането. Установяваме значителна корелационна зависимост между нивата на витамин Д при майката и тези от пълна връв през три от сезоните- пролет, лято и есен. Налице са следните зависимости по сезони (фиг.8a, b,c,d):

- **Сезон - пролет (8a):** Обхванати са 32 майка с 36 бебета през пролетните месеци на проучването от началото на месец март до края на месец май. Установи се, че съществува значителна корелационна зависимост между витамин Д на майките и ново-

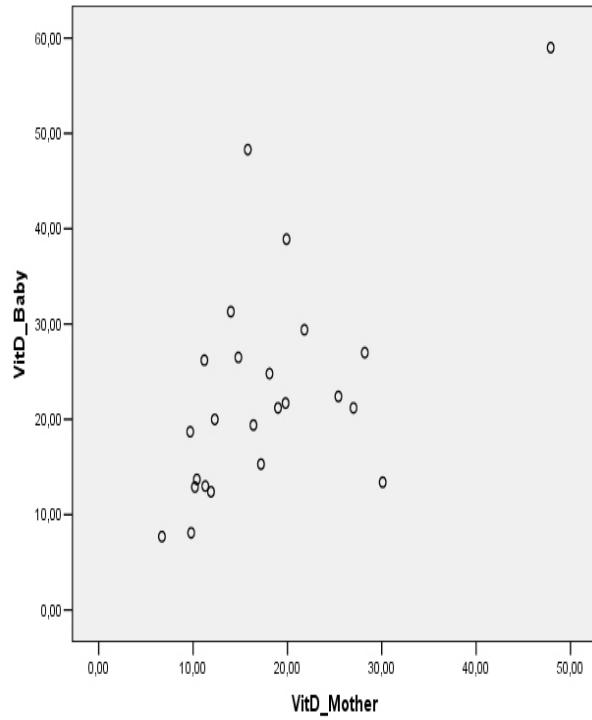
родените (непараметричен коефициент на корелация на Спирман – 0,570) в този сезон ($P < 0,001$).

- **Сезон - лято (8b).** През лятото (месеци юни- август) са обхванати 24 майки с 25 бебета. И тук съществува значителна корелационна зависимост между майчините и детските нива (непараметричен коефициент на корелация на Спирман – 0,574) в този сезон ($P < 0,003$).
- **Сезон - есен (8c).** Групата раждания през есента (месеци септември-ноември) е най-многобройна – 45 майки с 56 новородени. През есенния сезон отново се потвърждава посочената вече значителна корелационна зависимост между нивата при майките и новородените (непараметричен коефициент на корелация на Спирман – 0,621) за този сезон ($P < 0,0001$).
- **Сезон - зима (8d).** През зимните месеци на проучването (месеци декември-януари) са изследвани сравнително малък брой двойки – едва 10 майки с 12 бебета. В проучването няма двойки майка-бебе за месец февруари. Поради малкият брой случаи разпределението показва, че не съществува значима корелационна зависимост между майчините и детските нива на витамин Д (непараметричен коефициент на корелация на Спирман – 0,625, за сезон зима ($P = 0,054$). Налице е известна тенденция към същата зависимост, но тя не е статистически сигнификантна.

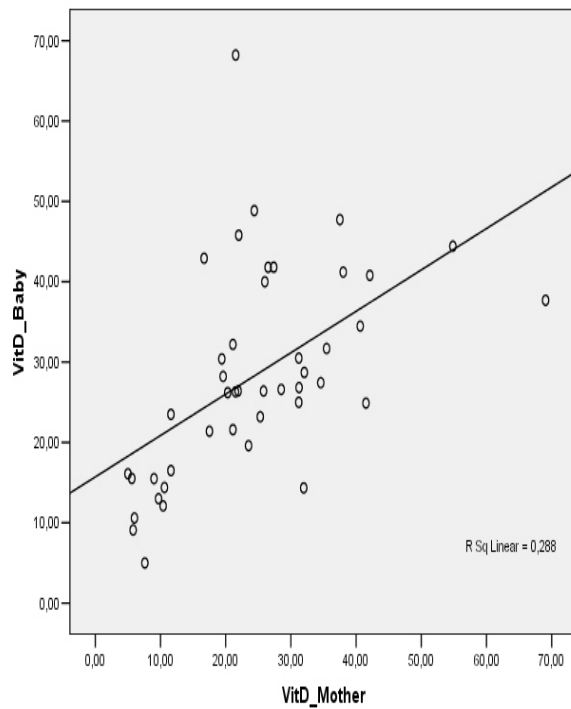
Фигура 8. Диаграми на разсейването според сезона



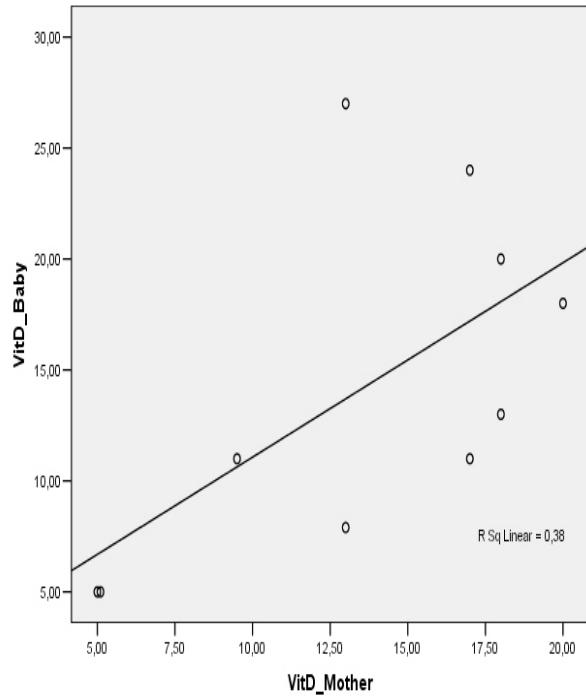
8a: Сезон - пролет



8b: Сезон - лято

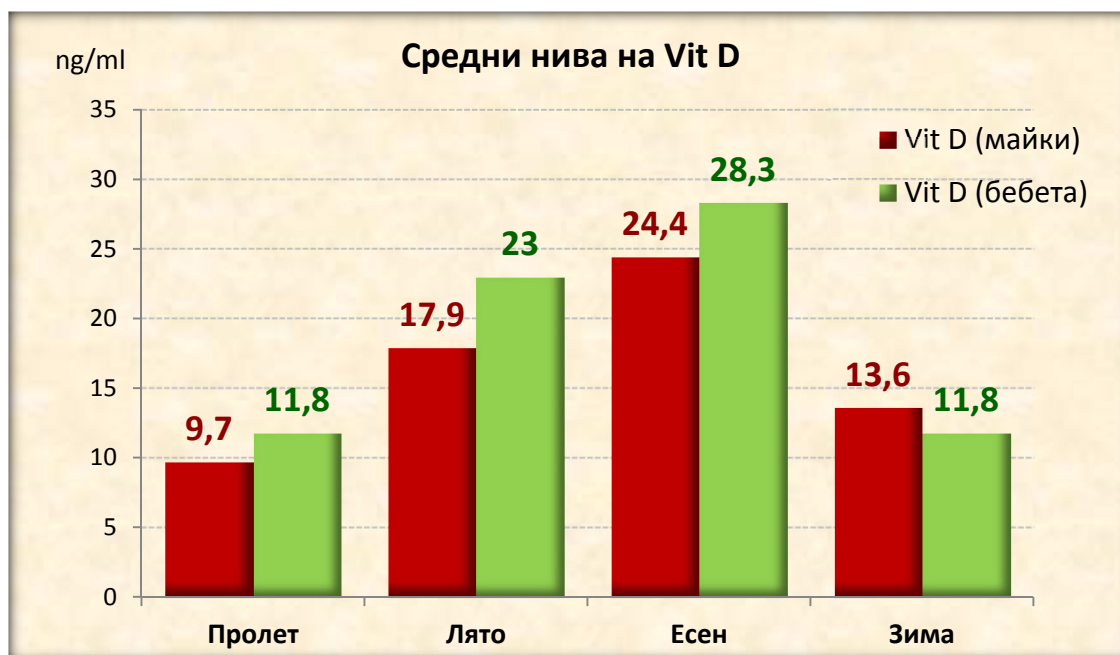


8c: Сезон - есен



8d: Сезон- зима

Фигура 9. Средни нива на витамин Д при майките и новородените според сезона



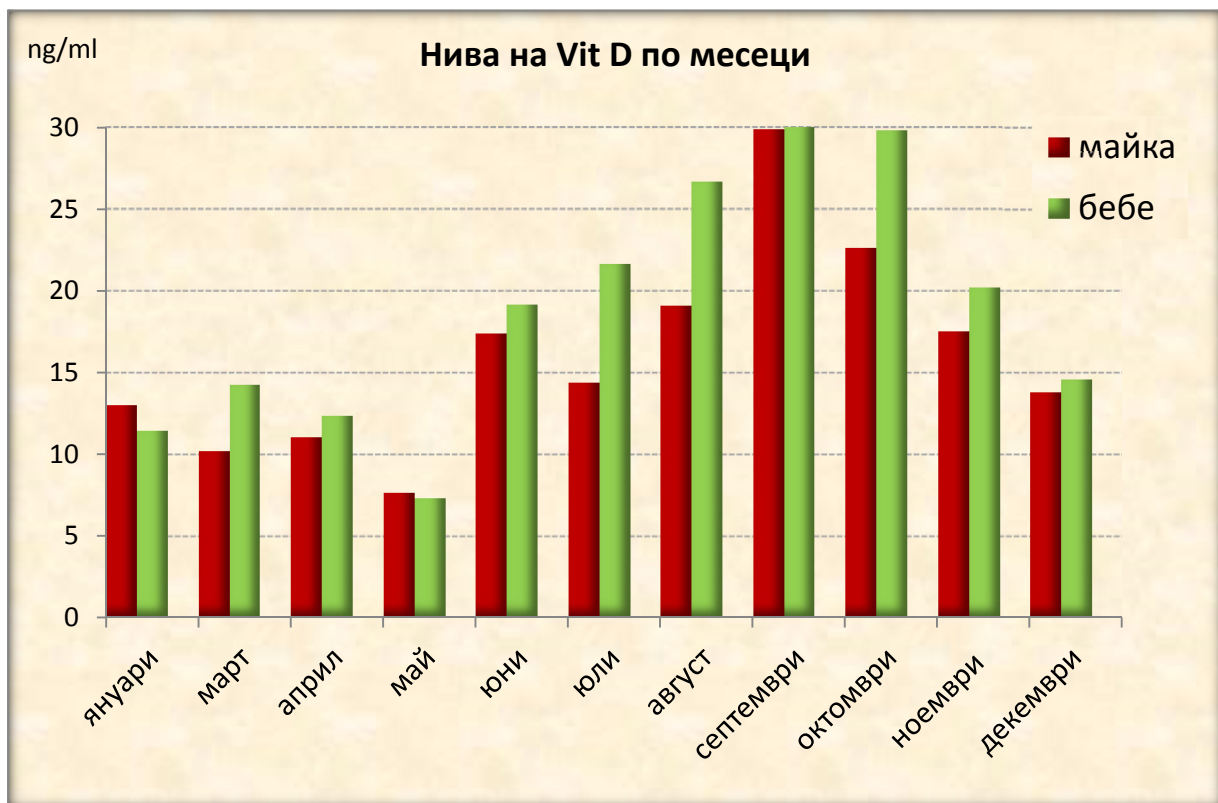
В зависимост от средните стойности на витамин Д в двойките майка-бебе в отделните месеци на годината се установяват следните средни нива на витамин Д в двойките майка-бебе.

Таблица 9. Средно месечно разпределение на нивата на витамин Д в при раждане

| | Витамин Д - майки | | | | Витамин Д - новородени | | | |
|-----------------|-------------------|--------------|---------------|--------|------------------------|--------------|---------------|--------|
| | Брой | Mean | Std Deviation | Median | Count | Mean | Std Deviation | Median |
| Месец 01 | 5 | 13,00 | 6,93 | 17,00 | 5 | 11,44 | 7,72 | 11,00 |
| 03 | 15 | 10,19 | 5,38 | 8,90 | 15 | 14,25 | 10,23 | 9,80 |
| 04 | 11 | 11,04 | 4,77 | 10,20 | 11 | 12,36 | 3,67 | 12,10 |
| 05 | 10 | 7,69 | 5,63 | 6,20 | 10 | 7,32 | 7,53 | 4,05 |
| 06 | 10 | 17,41 | 8,57 | 16,40 | 10 | 19,14 | 8,61 | 19,05 |
| 07 | 3 | 14,43 | 3,86 | 14,80 | 3 | 21,67 | 6,95 | 24,80 |
| 08 | 12 | 19,08 | 10,48 | 16,50 | 12 | 26,66 | 14,52 | 23,95 |
| 09 | 19 | 29,92 | 17,45 | 32,05 | 19 | 30,07 | 10,58 | 28,22 |
| 10 | 22 | 22,64 | 8,92 | 21,95 | 22 | 29,85 | 13,37 | 27,79 |
| 11 | 14 | 17,56 | 8,17 | 19,40 | 14 | 20,22 | 10,55 | 21,50 |
| 12 | 7 | 13,80 | 5,31 | 13,00 | 7 | 14,56 | 7,61 | 13,00 |

През месеците август, септември и октомври са установяват най-високи серумни нива както при майките, така и от пъпна връв на новородените. По-високите нива се дължат предимно на кожния синтез на витамин Д в майчиният организъм през летните месеци и акумулирането му в началото на есента. Серумният полуживот на 25(OH)D е 2 до 3 седмици, като след сезоните със значително слънцегреене нивата се понижават. Респективно зимно-пролетните месеци се отличават с ниски серумни нива при изследваните двойки поради минимална кожна синтеза и недостатъчен ентерален внос.

Фигура 10. Средни нива на витамин Д при раждането при двойките майка-бебе по месеци (за периода септември 2011-ноември 2013год.)



Средните нива на 25(OH)D през август-октомври са по-високи в сравнение със зимните месеци. През зимно-пролетните месеци витамин Д

е дефицитен както при майките така и при техните деца. Най-ниски стойности се наблюдават при раждане в месеците март-май.

Цялостната сезонна динамика за България би следвало да бъде проследена в продължение на няколко поредни години и да обхваща значително по-голяма популация.

3. ДИНАМИКА НА НИВАТА НА ВИТАМИН Д ПРИ ДЕЦАТА – РАЖДАНЕ И НА ОСМА СЕДМИЦА.

Изследваният контингент от **129** новородени показва, че **65** деца (**50,4%**) са с дефицит на витамин Д при раждането (**10,80±3ng/ml**). От останалите **-24** деца (**18,6%**) са с нормални нива на 25(OH)D (**41,17±30,01ng/ml**). **40** деца (**31 %**) са с недостиг на витамин Д (**25,05±20ng/ml**).

В края на проучването на осма седмица, повторно са изследвани нивата на витамин Д при 117 деца. Според анализа на данните и използваният тест на Мак-Немар настъпва положителна промяна в групите, която е статистически значима ($P < 0,0001$) /табл.10 и табл.11/.

При децата от **I гр. (>30ng/ml)** до 8 седмица са проследени 22 деца. При тях се наблюдава следната промяна: 10 деца (45,5%) запазват нормални нива на 25(OH)D, при 8 деца (36,4%) нивата са недостатъчни и 4 деца (18,2%) са с дефицитни нива.

При децата от **II група (21-29ng/ml)** на 8 седмица са проследени 35 деца. При тях се наблюдава следната промяна: 15 деца (42,9%) са с нормални нива на 25(OH)D, при 12 деца (34,3%) нивата са недостатъчни и 8 деца (22,9%) са с дефицитни нива.

При децата от **III група (<20 ng/ml)** на 8 седмица са проследени 60 деца. При тях се наблюдава следната промяна: 31 деца (51,7%) са с нормални нива на 25(OH)D, при 7 деца (11,7%) нивата са недостатъчни и 22 деца (36,7%) са с дефицитни нива.

Във всички групи е налице положителна тенденция във витамин Д статуса на 8 седмица. Според теста на Мак-Немар тази промяна не е случайна, и се дължи на закономерно действащ външен фактор, а именно субституция с витамин Д.

3.1. Промяна по групи спрямо изходният витамин Д и суплементиращата доза

Витамин Д суплементацията при децата се започва средно на 21 постнатален ден.

При стартиране на проучването се субституират **34 деца (26,4%)** с доза витамин Д₃ **667 IU/дн.** От тях на 8 седмична възраст са проследени 29 деца. Техните резултати на 8 седмична възраст са представени на **табл.10.**

Таблица 10. Динамика в нивата на витамин Д (в ng/ml) от раждането до 8-а седмица при новородените, получавали витамин Д₃ по 667 IU/дн.

| Групи | N=34 | При раждане | Групи | N=29 | На 8 седм. |
|------------------------------|---------------|-------------------------------|------------------------------|---------------|-------------------------------|
| I гр. >30 ng/ml | N=14 41,2% | 41,81 ± 9,81 | I гр. >30ng/ml | N=8 27,6% | 38,78 ± 6,87 |
| II гр. 21-29 ng/ml | N=11 32,3% | 26,49 ± 2,66 | II гр. 21-29 ng/ml | N=11 37,9% | 24,82 ± 2,96 |
| III гр. <20ng/ml | N=9 26,5% | 10,32 ± 4,67 | III гр. <20ng/ml | N=10 34,5% | 13,58 ± 4,97 |

При новородените от I група серумните нива на витамин Д са нормални при раждането и се запазват в нормални граници на 8 седмична възраст.

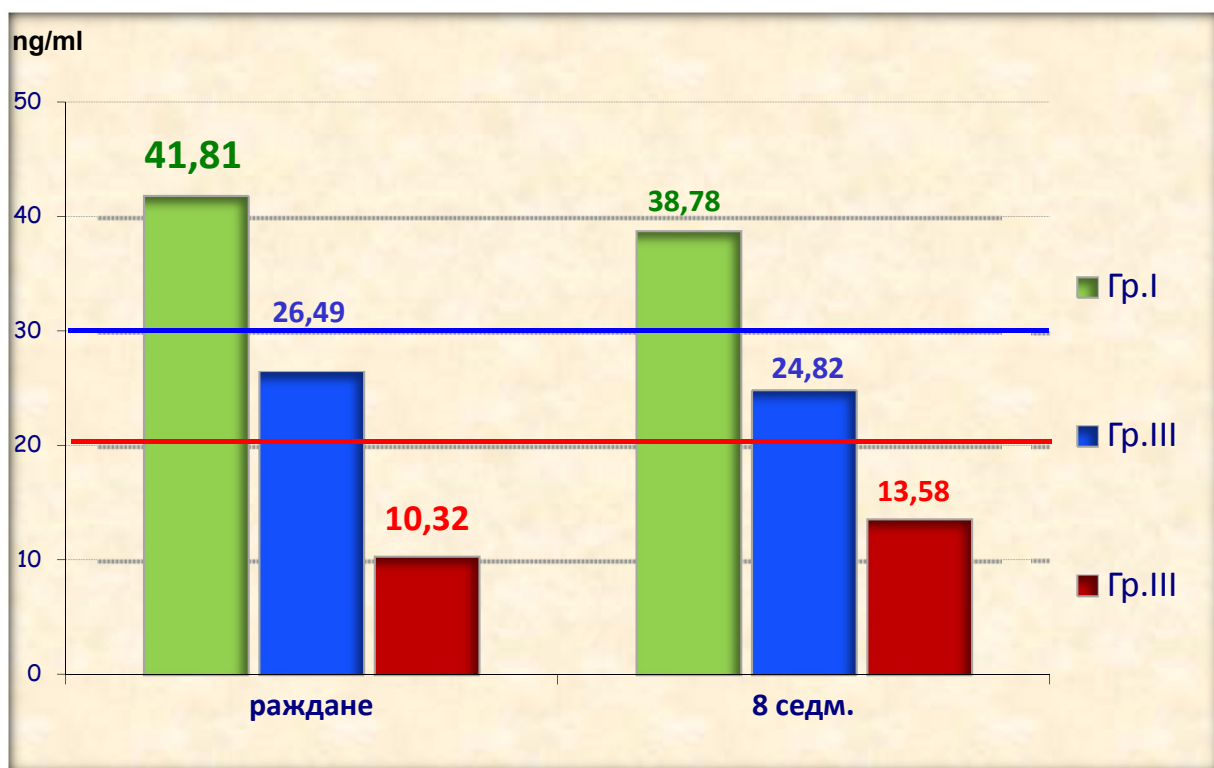
При новородените с недостиг на витамин Д при раждането не се установява промяна. Въпреки приема на Д₃ в доза 667 IU/дн. те остават с поднормени нива на 8 седмична възраст.

Децата с дефицит при раждането също не повишават серумните нива на 25(OH)D на 8 седмица.

От цялата група деца, приемали доза 667 IU/дн. витамин Д₃, 72,4 % остават с поднормени нива на двумесечна възраст.

Промяната в серумните нива на витамин Д при раждането и на 8 седмична възраст е представена на **фигура 11**.

Фигура 11. Динамика на серумните нива на витамин Д от раждането до 8-а седмица при децата, получавали вит.Д₃ по 667IU/дн.



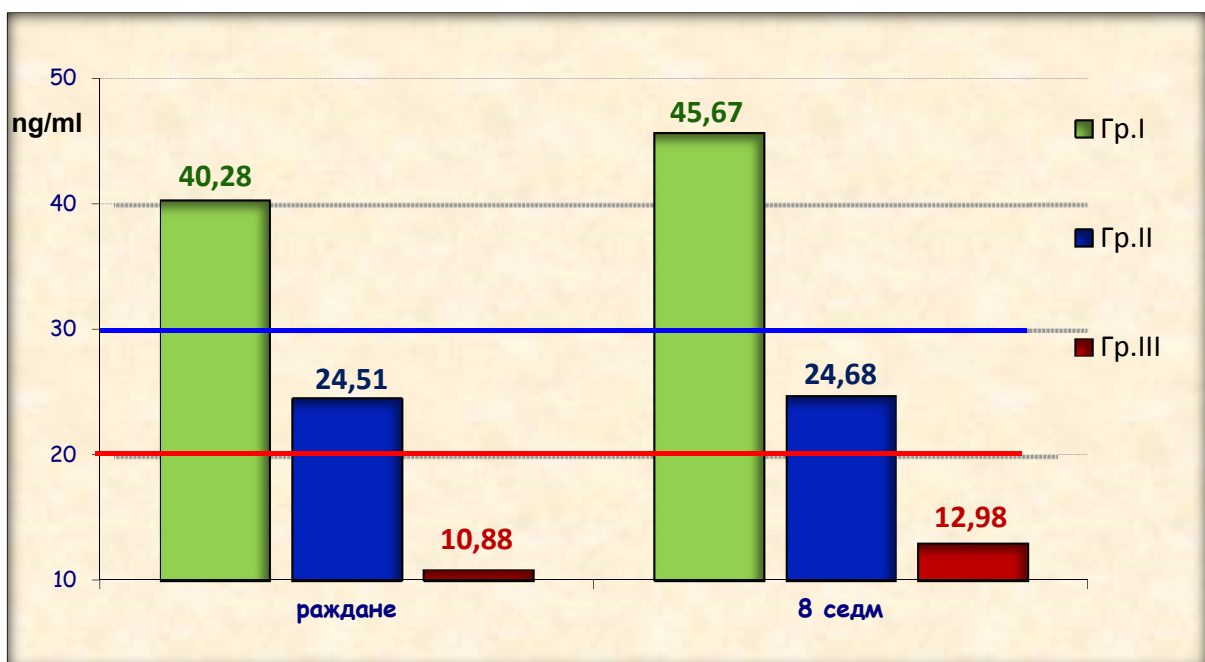
На базата на тези получени, първоначални данни за недостатъчен внос на витамин Д, се реши останалите деца да получават витамин Д₃ в двойно по- висока доза от 1334IU/дн. Отново са разгледани промените, които настъпват във витамин Д статуса на 8 седмица при трите групи пациенти.

Таблица 11. Динамика в нивата на витамин Д (в ng/ml) от раждането до 8-а седмица при новородените, получавали витамин Д₃ по 1334 IU/дн.

| Групи | N=95 | При раждане | Групи | N=88 | На 8 седм. (ng/ml) |
|------------------------------|---------------|-----------------------|----------------|---------------|------------------------|
| I гр. >30 ng/ml | N=10 10,5% | 40,28 ±8,63 | I гр. | N=47 53,4% | 45,67 ±11,19 |
| II гр. 21-29 ng/ml | N=29 30,5% | 24,51 ±2,71 | II гр. | N=17 19,3% | 24,68 ±2,57 |
| III гр. <20 ng/ml | N=56 59% | 10,88 ±4,74 | III гр. | N=24 27,3% | 12,98 ±4,26 |

Във всички групи е налице тенденция към повишаване и нормализиране на нивата на витамин Д. По-голяма част от децата на 8 седмица са с нормални нива на 25(OH)D >30 ng/ml. Децата с недостиг и дефицит при раждането показват значителна промяна в посока на повишение на витамин Д нивата си.

Фигура 12. Динамика на серумните нива на витамин Д от раждането до 8-а седмица при децата, получавали вит.Д₃ по 1334 IU/дн.



Въпреки различната суплементираща доза, при всички деца статистическият анализ чрез точният критерий на Фишер показва, че няма статистически значима зависимост между нивата на витамин Д при раждане в отделните групи деца ($P=0,070$). Промяната настъпва след старта на суплементацията.

В групата деца получавали витамин Д₃ по 667 IU/дн. промяната за изследваният период, не е статистически значима ($P=0,630$). В групата на децата приемали витамин Д₃ по 1334 IU/дн. промяната е статистически значима ($P<0,0001$). Следователно по-голямата доза от 1334 IU/дн. води до по-значима промяна в серумните нива на витамин Д (използван критерий на Мак-Немар). От всички деца приемали Д₃ 1334 IU/дн. 53,4% достигат нормални нива на витамин Д на двумесечна възраст.

Най-високата измерена стойност на 25(OH)D на 8 седмица е 68,40 ng/ml. Не е отчетена нито една проба с високи, близо до токсичната граница нива 25(OH)D >100 ng/ml.

Не се установи корелационна зависимост между нивата на витамин Д от пъпна връв и контролните нива на 8 седмица. Използваният регресионен анализ показва ниско ниво на корелация между двете нива с коефициент на корелация R 0,053.

3.2. Динамика на витамин Д при раждане и на 8 седмица при недоносените деца с ниско и съответно за г.в. тегло

Според степента на интраутеринен растеж децата са разпределени в 3 групи: деца с тежка интраутеринна хипотрофия (ИУХ) с тегло при раждане (тегло при раждане) $\leq 3\%$ за съответната г.в., деца с тегло при раждане $\leq 10\%$ за съответната г.в. и еутрофични деца с тегло при раждане >10 перцентил.

За определяне на степента на интраутеринен растеж използваме кривите на Fenton TR [74].

Установяваме ниска обща честота на децата с ИУХ: 17 новородени или **13,17%** от изследваната популация. Сравняват се промени, които настъпват във витамин Д статуса от раждането до контролното изследване на 8 седмица, за да се прецени дали съществуват разлики между недоносените деца с ИУХ и еутрофичните (табл. 12 и 13). Получените резултати показват, че децата с ИУХ достигат референтните нива на витамин Д на 8 седмица, като липсва статистически значима разлика в отделните групи по отношение на витамин Д на 8 седмица (Тест на Крускал-Уолис $P=0,230$). При групата деца с тегло при раждането между 3 и 10 перцентил увеличаването на серумните нива е най-голямо от 13,90 ng/ml на 32,58 ng/ml. Отчетливо е повишаването и в групата с тежка ИУХ под 3 перцентил от 24,90 на 38,10 ng/ml. Вероятно децата с ИУХ притежават по-зрели механизми в обмяната на витамин Д, както и по-усилен постнатален темп на растеж.

Таблица 12. Нива на витамин Д при раждане при недоносени деца с ИУХ и съответно за гестационната си възраст тегло.

| Групи деца раждане | N | Пъпна връв | Median | Minimum | Maximum | SD |
|--------------------|-----|--------------|--------|---------|---------|-------|
| ИУХ ≤ 3% | 10 | 24,90 | 25,10 | 5 | 42,93 | 11,86 |
| ИУХ ≤ 10% | 7 | 13,90 | 9,60 | 3 | 31,70 | 9,83 |
| Еутрофични | 112 | 20,94 | 19,80 | 3 | 68,22 | 12,90 |
| Общо | 129 | 20,87 | 19,60 | 3 | 68,22 | 12,75 |

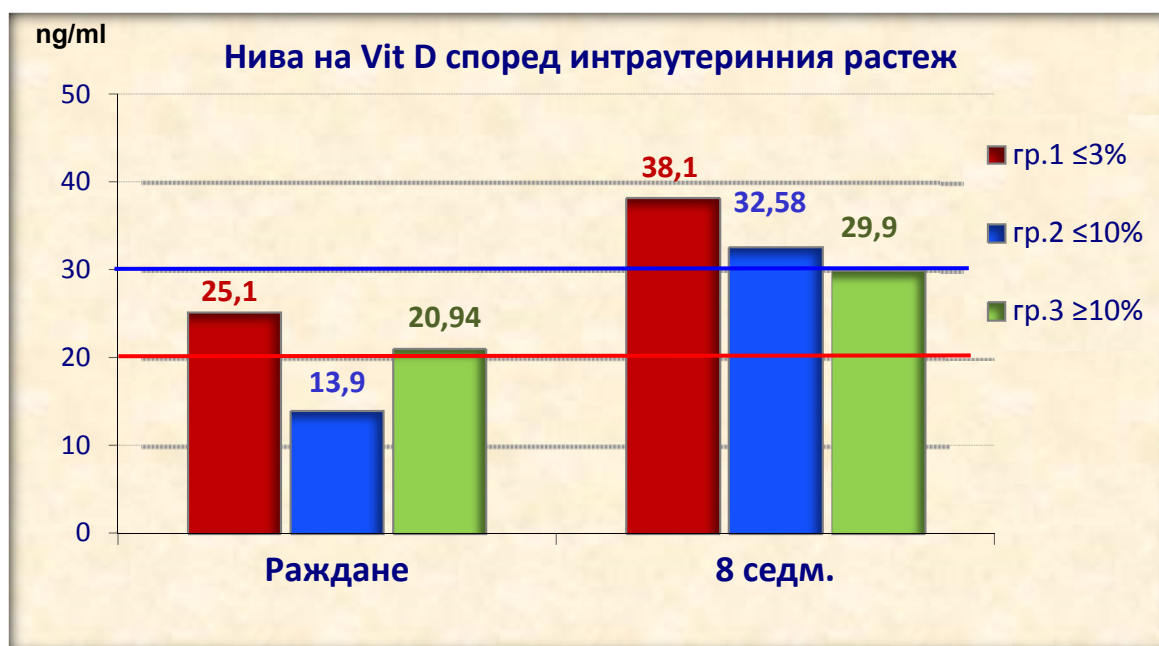
Нашите данни не показват значима разлика в нивата на витамин Д от пъпна връв между децата с ИУХ и еутрофичните недоносени деца. Контролните нива на 8 седмици при същите групи деца- с ИУХ и със съответно за гестационната си възраст тегло показват отчетливо покачване.

Таблица 13. Нива на витамин Д (ng/ml) на 8 седмица при недоносени деца с ниско и съответно за г.в. тегло.

| Групи деца | N | Mean | Median | Minimum | Maximum | SD |
|-------------------|-----|--------------|--------|---------|---------|--------|
| ИУХ ≤ 3% | 10 | 38,10 | 36,45 | 7 | 60 | 16,430 |
| ИУХ ≤ 10% | 6 | 32,58 | 32,55 | 7 | 64 | 18,827 |
| Еутрофични | 101 | 29,90 | 26,20 | 3 | 68 | 15,686 |
| Общо | 117 | 30,74 | 28,10 | 3 | 68 | 15,931 |

Графичния израз на динамиката е представен на следната **фиг.13**.

Фигура 13. Динамика на 25-OHD при раждане и на 8 седмица при недоносени деца с ниско и съответно за гестационната възраст тегло.



4. ДИНАМИКА НА БИОХИМИЧНИТЕ МАРКЕРИ ЗА КОСТЕН МЕТАБОЛИЗЪМ ПРИ ДЕЦАТА

При изследвания контингент от предтерминно родени деца от раждането до навършване на 8 седмична възраст се анализират биохимичните показатели за костен метаболизъм. Изследвани са нивата на

общ и йонизиран калций (Ca), серумен фосфор (P), серумна алкална фосфатаза (AP) през двуседмичен интервал, паратхормон (PTH) на 2 и 8 седмица и нива на витамин Д на 8 седмица. На всички деца е изследван тотален протеин, който се запазва в референтни граници за целият период на проучването.

Таблица 14. Анализ на нивата на тоталният протеин в серума на децата проследен до 8 седмица.

| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std.Dev |
|-------------|------|--------------|--------------|-------------|-------------|---------------|
| 1_tP | 129 | 46,02 | 45,6 | 27,9 | 63,5 | 0,6,29 |
| 2_tP | 124 | 49,89 | 49,95 | 34,5 | 72 | 5,36 |
| 4_tP | 117 | 46,86 | 45,6 | 38,9 | 60,1 | 4,82 |
| 6_tP | 9 | 45,85 | 45,2 | 36,8 | 61,3 | 4,69 |
| 8_tP | 115 | 45,60 | 44,7 | 38,1 | 63,4 | 4,24 |

Потърси се в кои от изследваните показатели настъпват най-значими промени и дали съществува връзка между тези промени и витамин Д статуса на децата.

4.1. Анализ на промените в концентрациите на серумните минерали

Таблица 15. Общ калций (норма 2,25-2,6 mmol/l)

| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std.Dev |
|-------------|------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1_Ca | 129 | 2,25 | 2,26 | 1,67 | 2,88 | 0,21 |
| 2_Ca | 125 | 2,51 | 2,51 | 2,19 | 3,04 | 0,15 |
| 4_Ca | 118 | 2,44 | 2,45 | 1,83 | 2,85 | 0,16 |
| 6_Ca | 93 | 2,42 | 2,43 | 1,90 | 2,82 | 0,17 |
| 8_Ca | 114 | 2,45 | 2,44 | 1,61 | 2,83 | 0,16 |

Таблица 16. Йонизиран калций (норма 1,1-1,36 mmol/l.)

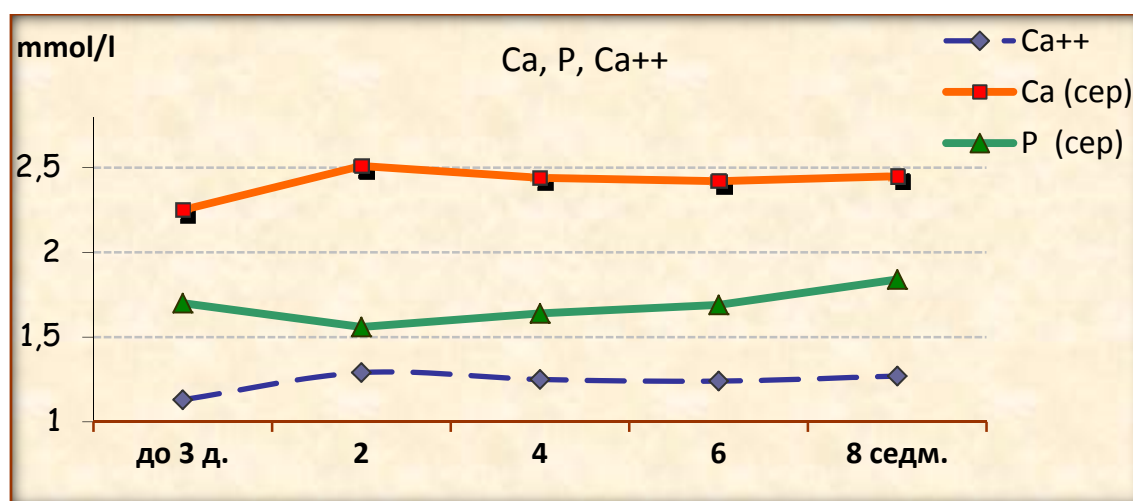
| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std.Dev |
|--------------------------|------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1_Ca⁺⁺ | 129 | 1,13 | 1,11 | 0,75 | 1,95 | 0,18 |
| 2_Ca⁺⁺ | 125 | 1,29 | 1,31 | 0,72 | 1,73 | 0,18 |
| 4_Ca⁺⁺ | 118 | 1,25 | 1,28 | 0,56 | 1,49 | 0,16 |
| 6_Ca⁺⁺ | 92 | 1,24 | 1,27 | 0,83 | 1,52 | 0,15 |
| 8_Ca⁺⁺ | 112 | 1,27 | 1,29 | 0,74 | 2,17 | 0,18 |

Таблица 17. Серумен фосфор (норма 1,6-2,4 mmol/l)

| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std.Dev |
|------------|------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1_P | 129 | 1,69 | 1,70 | 0,60 | 3,50 | 0,48 |
| 2_P | 125 | 1,56 | 1,57 | 0,39 | 2,85 | 0,51 |
| 4_P | 118 | 1,64 | 1,72 | 0,61 | 2,59 | 0,45 |
| 6_P | 93 | 1,69 | 1,79 | 0,63 | 2,26 | 0,37 |
| 8_P | 114 | 1,84 | 1,88 | 0,71 | 2,58 | 0,33 |

Изследвания контингент деца за посоченият период не показва съществена динамика в нивата на общ, йонизиран калций и фосфор.

Фигура 14. Динамиката на серумените Ca, Ca⁺⁺ и P



Установяват се най-ниски, поднормени стойности за фосфора на втората седмица след раждането (**1,56±0,51**). През последващите

измервания фосфора показва леко повишение, като на 8 седмица достига до средни нива $1,84 \pm 0,33$. Установява се статистически значима корелационна зависимост между нивата на серумният фосфор на втора и осма седмица – (непараметричен коефициент на корелация на Спирман - 0,293) ($P=0,002$).

Промените в нивата на другите два маркера на костната обмяна са разгледани на следващите две таблици.

4.2. Анализ на промените в концентрациите на серумната алкална фосфатаза и паратхормон

Алкалната фосфатаза (AP) се проследява от раждането през двуседмичен период до 8-ма постнатална седмица. Данните са представени в табл.18. Стойностите на AP не показват съществено отклонение от нормата, като средните стойности се запазват в референтни граници с тенденция за покачване след втората седмица.

Таблица 18. Алкална фосфатаза (референтни граници 110-406U/l)

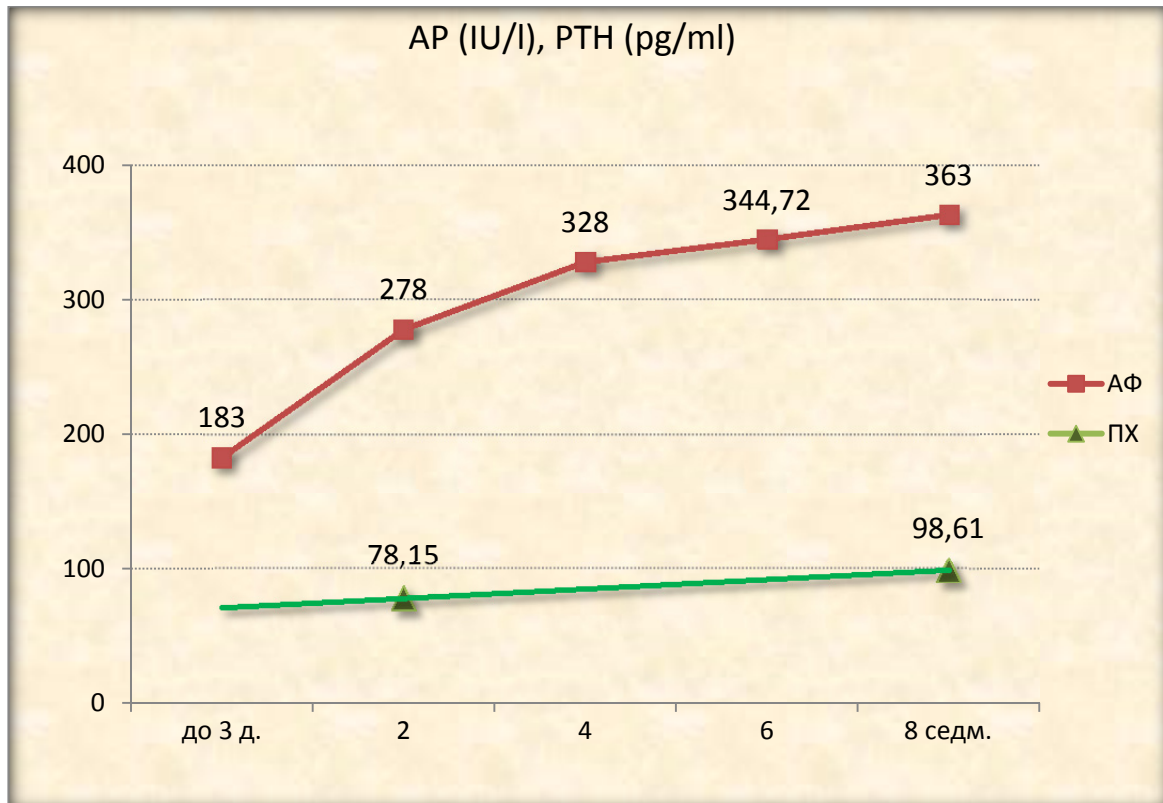
| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std.Dev |
|-------------|------|------------|------------|--------------|---------------|---------------|
| 1_AP | 129 | 183 | 170 | 53 | 631 | 78 |
| 2_AP | 125 | 278 | 258 | 92 | 663 | 108 |
| 4_AP | 118 | 328 | 299 | 127 | 682 | 118 |
| 6_AP | 87 | 345 | 328 | 64,00 | 822,00 | 129,20 |
| 8_AP | 114 | 363 | 340 | 3 | 1023 | 135 |

Таблица 19. Парахормон (норма 15-65 pg/ml.)

| | Брой | Mean | Median | Minimum | Maximum | Std Deviation |
|----------------|------|--------------|--------------|-------------|---------------|---------------|
| PTH 2 седм. | 124 | 78,13 | 64,02 | 7,38 | 485,50 | 61,98 |
| PTH 8 седм. | 111 | 98,61 | 62,65 | 5,97 | 511,00 | 92,27 |

Установява се статистически значима корелационна зависимост между стойностите на паратхормона (PTH) на 2 и 8 седмица (табл. 19) – непараметричен коефициент на корелация на Спирман - 0,192 (P=0,045).

Фигура 15. Динамика на алкалната фосфатаза и паратхормона за изследвания период



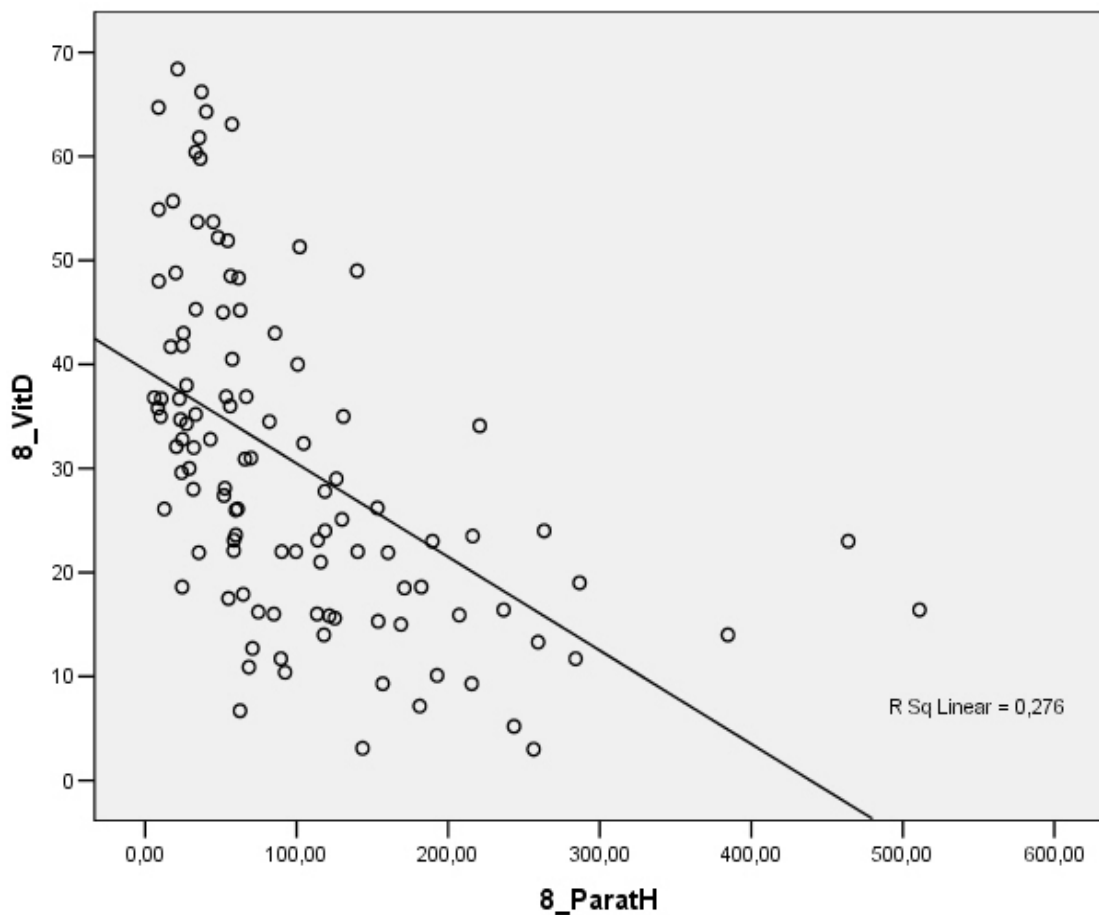
На фиг. 15 е представена графично динамиката на AP и PTH до 8-а седмица.

След установените промени в динамиката на паратхормона се потърси връзката между тях и контролно серумно ниво на витамин Д на 8 седмица.

Корелация между PTH и витамин Д

Сравнени стойностите на паратхормона и витамин Д на 8 седмица доказат значителна отрицателна корелационна зависимост (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,655) (P<0,0001).

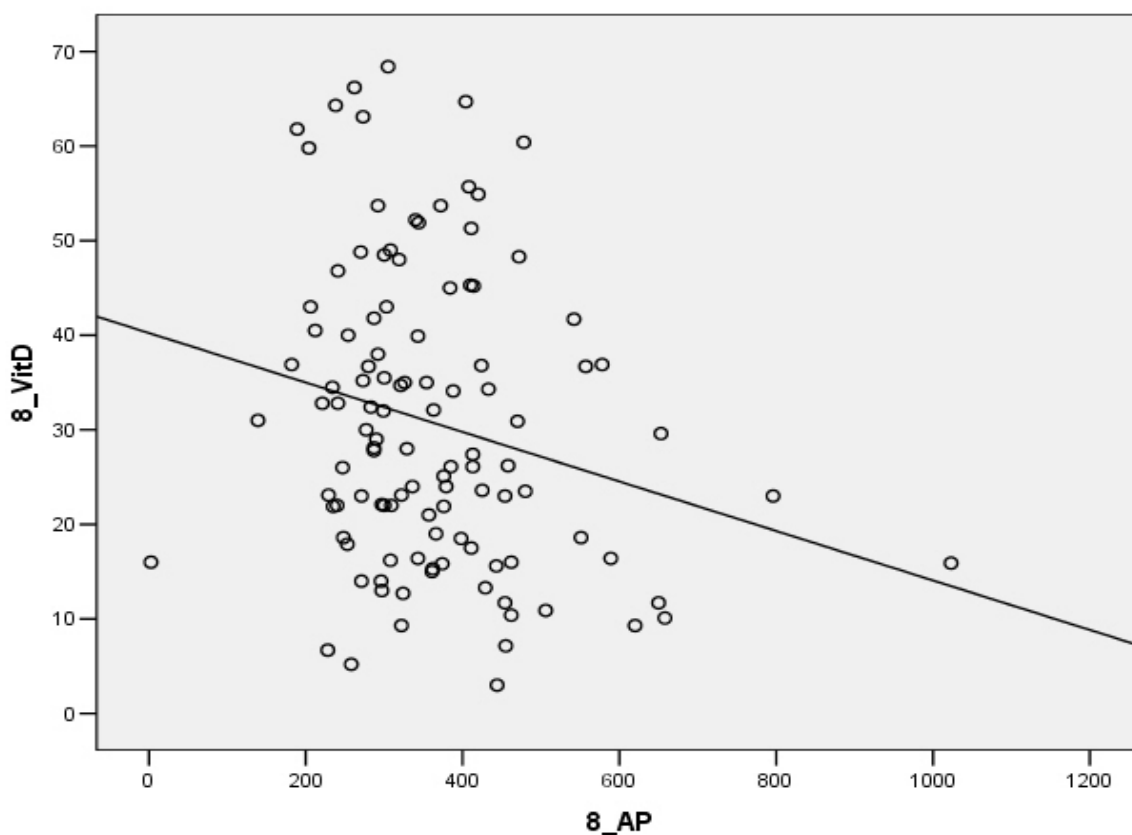
Фигура 16. Графичен израз на зависимостта между витамин Д и паратхормон на 8 седмица.



Покачването на нивата на паратхормона показва понижени нива на витамин Д, което е белег за недостатъчна суплементация. Математическият модел на зависимостта се изразява със следното линейно регресионно уравнение: **Витамин Д 8 седмица = 40,007 - 0,09 · Паратхормон на 8 седмица**. От тук следва извода, че нивото на паратхормона може да се използва за прогнозиране на недостиг или дефицит на витамин Д.

Корелация между АР и витамин Д

Фигура 17. Диаграма на разсейването за витамин Д и АР на 8 седмица



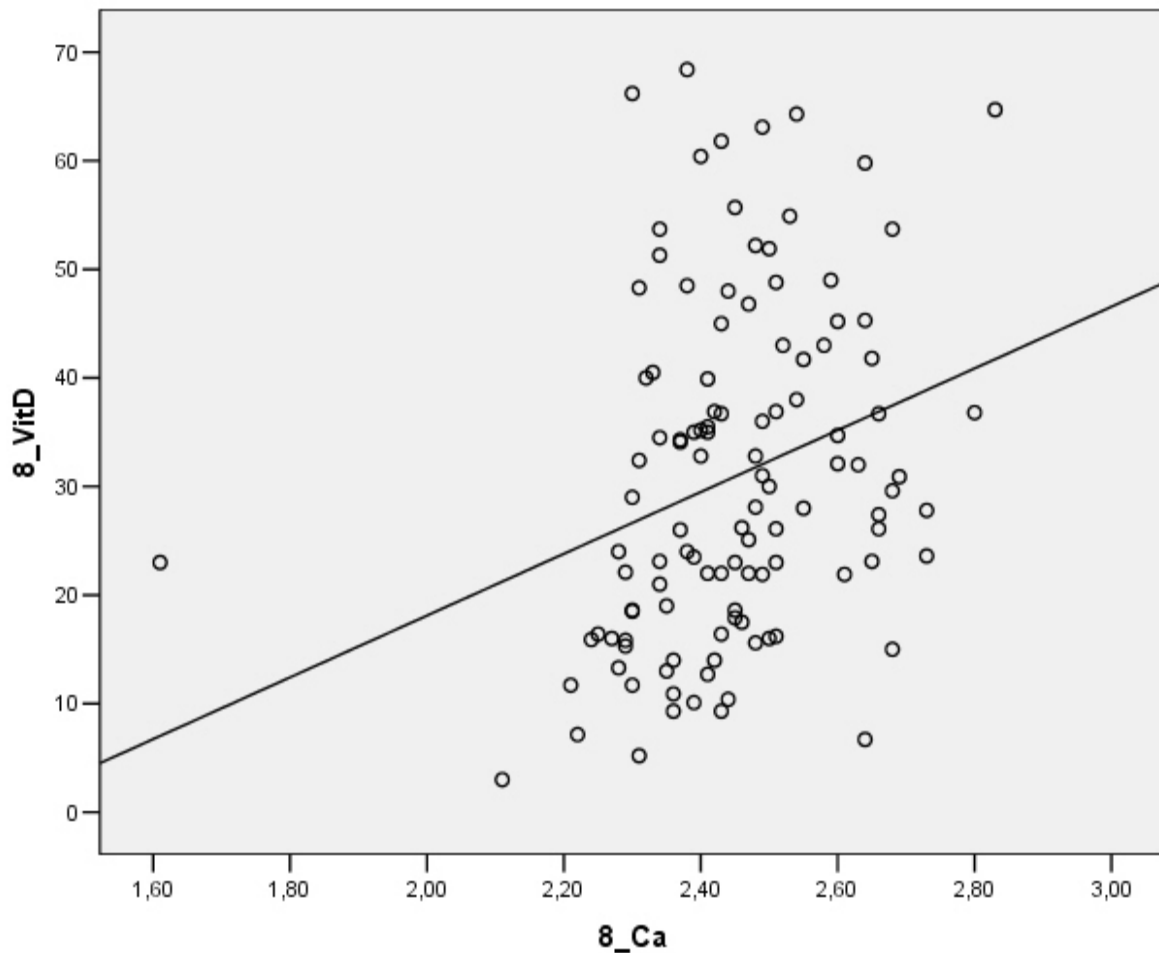
Установява се отрицателна корелационна зависимост между нивата на витамин Д и тези на алкалната фосфатаза на 8-а седмица (Фиг. 17). (непараметричен коефициент на корелация на Спирман $-0,225$ $P=0,017$). Тази зависимост се изразява в повишаване на нивата на алкална фосфатаза при ниски нива на витамин Д на двумесечна възраст при предтерминно родените деца и може да се използва за прогнозиране на дефицита му.

Корелации между общия калций и витамин Д

Съществува статистически значима корелационна зависимост между витамин Д при раждането и общия калций при раждането (непараметричен коефициент на корелация на Спирман $-0,303$, $P<0,0001$) и стойностите на втора седмица (непараметричен коефициент на корелация на Спирман $-0,197$, $P<0,028$).

На осмата седмица нивото на общия калций проявява умерена корелационна зависимост с нивото на витамин Д (непараметричен коефициент на корелация на Спирман $-0,337$, $P < 0,0001$).

Фигура 18. Диаграма на разсейването за витамин Д и общ калций на 8 седмица



Ниски нива на витамин Д при раждането оказват влияние върху общия Са, без да има промяна в йонизирания, тази зависимост се запазва до 2 седмица, когато все още не е започнат пероралният внос. Бихме могли да направим следния извод, че общия Са е индиректен, широкодостъпен показател за пренаталният витамин Д статус. Изследването му на 8 седмица дава информация за нуждите от витамин Д.

Концентрациите на йонизирания Са на 6 и 8 седмици показват също зависимост спрямо нивата на витамин Д при раждане. Отчетена е статистически значима корелационната зависимост за 6 седмица (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,246) ($P < 0,018$) и за 8 седмица (непараметричен коефициент на корелация на Спирман - 0,285) ($P < 0,002$).

На базата на тези промени в динамиката на серумните биохимични маркери за костен метаболизъм се потърси, при кои от първоначалните групи пациенти, промените са най-изразени. За целта се анализират новородените според витамин Д при раждането и респективно промяната, която настъпва в техните биохимични маркери (табл. 20).

Таблица 20. Динамика на алкалната фосфатаза по групи спрямо изходният витамин Д

| Групи | | 1_АP | 2_АP | 4_АP | 6_АP | 8_АP |
|-------------------------------|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| I > 30 ng/ml нормални нива | Mean | 183,67 | 297,52 | 333,30 | 298,43 | 368,35 |
| | SD | 59,22 | 75,905 | 137,720 | 132,46 | 140,06 |
| II 21 -29 ng/ml недостиг | Mean | 193,35 | 262,68 | 304,84 | 334,19 | 365,32 |
| | SD | 108,033 | 121,522 | 123,293 | 122,49 | 148,19 |
| III < 20 ng/ml дефицит | Mean | 176,05 | 279,89 | 340,07 | 367,26 | 359,67 |
| | SD | 60,013 | 108,769 | 105,167 | 129,43 | 125,26 |

Децата в отделните групи не показват различия по отношение нивата на алкална фосфатаза. При всички е налице нормалното постнатално увеличение на показателя, като той се задържа в референтни граници. Само при едно дете от проучването се установява на 8 седмица алкална фосфатаза над 800 U/l (1023 U/l), която се асоциира с екстремно високо ниво на паратхормон- 207,3 pg/ml и ниско ниво на витамин Д - 15,90 ng/ml при дневен прием от 1334UI Д₃.

Таблица 21. Промени в паратхормона по групи спрямо изходния витамин Д

| Групи според майчиния Vit D статус | PTH в проби на 2 седмици | PTH в проби на 8 седмици |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| I гр. нормален Vit D | 45,31±32,14 | 64,06±44,13 |
| II гр. недостатъчност | 85,47±48,96 | 137,14±153,08 |
| III гр. дефицит | 88,65±65,14 | 93,2861±93,67 |

Стойностите на PTH са в референтни граници при децата с нормален витамин Д при раждане. При групите с недостиг и дефицит на витамин Д при раждане PTH е леко повишен .

На осма седмица се отчита повишение при всички деца. При децата от I група нивата на PTH са на горна граница на нормата.

Най -голямо повишение над два пъти спрямо нормата се установява при децата от II група /с витамин Д недостиг/- (137,14 ±153,08).

В III група при децата с дефицит на витамин Д при раждане също има повишение, макар и не е така значително (PTH=93,28±93,67).

На базата на тези данни анализираме каква промяна настъпва в серумните нива на общия, йонизирания Са, и фосфора в същите изходни групи деца.

Потърси се дали увеличението на нивата на PTH води до поднормени стойности на посочените показатели.

Таблица 22. Серумни стойности на общ Са, Са⁺ и Р през периода 0-8 седмици по групи.

| Гр | 0-3 дни | | | 2 седмици | | | 4 седмици | | | 6 седмици | | | 8 седмици | | | | | | | |
|-------------|---------|------------------------|--------------------------|------------------------|-----|------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------|------------------------|--------------------------|------------------------|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| | N | Са | Са ⁺ | Р | Са | Са ⁺ | Р | Са | Са ⁺ | Р | Са | Са ⁺ | Р | Са | Са ⁺ | Р | | | | |
| I. | 24 | 2,3 ± 0,3 | 1,14 ± 0,24 | 1,6 ± 0,4 | 24 | 2,5 ± 0,1 | 1,30 ± 0,20 | 1,3 ± 0,5 | 23 | 2,4 ± 0,1 | 1,29 ± 0,14 | 1,6 ± 0,4 | 20 | 2,42 ± 0,14 | 1,30 ± 0,11 | 1,67 ± 0,37 | 21 | 2,4 ± 0,2 | 1,33 ± 0,19 | 1,8 ± 0,3 |
| II. | 40 | 2,2 ± 0,1 | 1,17 ± 0,15 | 1,6 ± 0,5 | 38 | 2,5 ± 0,1 | 1,31 ± 0,21 | 1,7 ± 0,4 | 37 | 2,4 ± 0,1 | 1,27 ± 0,13 | 1,7 ± 0,3 | 28 | 2,45 ± 0,15 | 1,25 ± 0,13 | 1,74 ± 0,37 | 37 | 2,4 ± 0,1 | 1,29 ± 0,11 | 1,8 ± 0,3 |
| III. | 65 | 2,2 ± 0,1 | 1,10 ± 0,17 | 1,6 ± 0,4 | 64 | 2,4 ± 0,1 | 1,27 ± 0,15 | 1,5 ± 0,5 | 58 | 2,4 ± 0,1 | 1,22 ± 0,18 | 1,5 ± 0,4 | 45 | 2,39 ± 0,19 | 1,20 ± 0,15 | 1,67 ± 0,36 | 56 | 2,4 ± 0,20 | 1,24 ± 0,20 | 1,8 ± 0,3 |
| общо | 129 | 2,2 ± 0,2 | 1,13 ± 0,18 | 1,6 ± 0,4 | 125 | 2,5 ± 0,1 | 1,29 ± 0,18 | 1,5 ± 0,5 | 118 | 2,4 ± 0,1 | 1,25 ± 0,16 | 1,6 ± 0,4 | 93 | 2,41 ± 0,17 | 1,24 ± 0,14 | 1,69 ± 0,37 | 114 | 2,4 ± 0,1 | 1,27 ± 0,18 | 1,8 ± 0,3 |

Не се наблюдават отклонения от референтните стойности в отделните групи. Серумните нива на общия и йонизиран калций са на долна граница на нормата след раждането и в трите групи деца. Тази тенденция е обусловена от преходната ранна неонатална хипокалциемия веднага след раждането, като в следващите дни и седмици, общия и йонизиран Са трайно остават в норма. Серумният фосфор в трите групи е на долна граница на нормата през първият месец след раждането, едва на 8 седмична възраст леко завишава нивата си, без обаче да се надхвърлят стойности от 2 mmol/l. В групата на децата с дефицит Р е в поднормени нива на 2 и 4 седмица ($P=1,50 \text{ mmol/l} \pm 0,5$).

Не се установява статистически значима линейна корелационна зависимост между серумният фосфор и РТН на 8 седмица. Непараметричният коефициент на корелация на Спирман е равен на -0,236.

5. ПРОСЛЕДЯВАНЕ НА ДЕЦАТА ПО КЛИНИКО-ТЕРАПЕВТИЧНИ ПОКАЗАТЕЛИ

За период на проучването децата са проследени по отношение на следните показатели: продължителност на апаратна вентилация /АВ/, кислородозависимост на 28 постнатален ден, и на 36 г.с., честотата и тежест на бронхопулмонална дисплазия, продължителност на тотално и допълващо парентерално хранене, старт на ентэрално хранене. Потърси се има ли разлики в първоначалните три групи деца по отношение на изброените клиничко-терапевтични показатели. Хроничните усложнения при децата с тегло под 1500 грама, имащи отношение към витамин Д обмяната са БПД и остеопения на недоносените. Потърси се съществува ли връзка между дефицита на витамин Д при раждането и развитието на бронхопулмонална дисплазия и при колко от пациенти е налице биохимичната констелация за неонатална остеопения след навършена едномесечна възраст.

При децата с недостиг и дефицит на витамин Д (II и III гр.) апаратна вентилация продължава (средно 4,84 респективно 11,52 дни), периода на тотално парентерално хранене (средно 6,57 респективно 8,37 дни).

Таблица 23. Клинико-терапевтично проследяване на децата по групи.

| Групи | | АВ - дни | O ₂ на 28 ден | O ₂ на 36 г.с. | ТПХ дни | Старт на ентерално хранене-д. | ДПХ дни | Дни |
|-----------------------------|---------|--------------|--------------------------|---------------------------|-------------|-------------------------------|--------------|--------------|
| I гр. 30,00 | N | 25 | 25 | 24 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| | Mean | 9,08 | 1,44 | 1,33 | 8,44 | 5,92 | 18,08 | 57,20 |
| | Median | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 6,00 | 6,00 | 15,00 | 51,00 |
| | Minimum | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 4 | 27 |
| | Maximum | 45 | 2 | 3 | 24 | 12 | 56 | 133 |
| | SD | 13,515 | 0,507 | 0,637 | 6,299 | 2,783 | 13,206 | 24,202 |
| II гр. 20,01 - 29,99 | N | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 | 37 |
| | Mean | 4,84 | 1,43 | 1,24 | 6,57 | 4,92 | 13,38 | 52,68 |
| | Median | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 5,00 | 4,00 | 10,00 | 45,00 |
| | Minimum | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 4 | 29 |
| | Maximum | 28 | 2 | 2 | 31 | 14 | 37 | 124 |
| | SD | 6,918 | ,502 | ,435 | 5,650 | 2,302 | 8,744 | 19,105 |
| III гр. <= 20,00 | N | 67 | 65 | 64 | 67 | 66 | 66 | 67 |
| | Mean | 11,52 | 1,58 | 1,44 | 8,37 | 5,36 | 16,94 | 54,85 |
| | Median | 6,00 | 2,00 | 1,00 | 6,00 | 5,00 | 13,00 | 53,00 |
| | Minimum | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 4 | 13 |
| | Maximum | 95 | 2 | 3 | 32 | 17 | 57 | 101 |
| | SD | 17,902 | ,497 | ,639 | 6,866 | 2,652 | 10,560 | 20,919 |
| Общо | N | 129 | 127 | 125 | 129 | 128 | 128 | 129 |
| | Mean | 9,13 | 1,51 | 1,36 | 7,87 | 5,34 | 16,13 | 54,68 |
| | Median | 3,00 | 2,00 | 1,00 | 6,00 | 5,00 | 13,00 | 49,00 |
| | Minimum | 0 | 1 | 1 | 1 | 2 | 4 | 13 |
| | Maximum | 95 | 2 | 3 | 32 | 17 | 57 | 133 |
| | SD | 14,876 | ,502 | ,588 | 6,435 | 2,585 | 10,724 | 20,989 |

При децата с нормален витамин Д (I гр.) при раждането има средна продължителност на апаратната вентилация от 9,08 дни, период на ТПХ - средно 8,44 дни. Началото на ентéralното хранене в трите групи не показва разлики, като е средно на 5,34 ден от раждането. Продължителността на допълващото парентерално хранене във II и III групи са сходни съответно 16,94 и 13,38 дни. При децата от I група то продължава до 18,08 ден.

Статистическият анализ чрез тестът на Крускал –Уолис показва, че **няма** статистически значимо различие между трите групи по отношение на клинично-терапевтичните показатели – $P > 0,05$.

На базата на два от проследените горни показатели, а именно кислородозависимост на 28 ден, и на 36. г.с. се основава дефиницията на БПД [67]. Анализират се посочените показатели отделно отново в трите групи деца.

Таблица 24. Анализ на кислородозависимостта на 28 ден, по групи спрямо витамин Д при раждането

| О₂ на 28 ден | Iгр. > 30 | IIгр. 21 - 29 | IIIгр. < 20 | Общо |
|--------------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|
| Деца без О ₂ на 28 ден | 13 (54,2%) | 22 (55%) | 27 (42,9%) | 62 (48,8%) |
| Деца с О ₂ на 28 ден | 11 (45,8%) | 18 (45%) | 36 (57,1%) | 65 (51,2%) |
| Общо | 24 (100%) | 40 (100%) | 63 (100%) | 127 (100%) |

По отношение на кислородната суплементация и в трите групи остават приблизително еднакъв брой деца с кислородозависимост на 28 ден, както и деца без нужди от допълнителен кислород. Най-голям брой деца с кислородозависимост има в III група (с дефицит на витамин Д при раждането) -36 деца, следва групата с недостиг на витамин Д-18 деца. При

децата от I група с нормален витамин Д при раждането 11 са с кислородозависимост на 28 ден.

Разпределението на децата по групи в зависимост от нуждата от кислород на 36 г.с. е представено в **табл. 25**. То показва, че при навършване на 36 г.с. **38 деца (30,4%)** от проучването имат нужда от допълнително подаване на кислород, като най-много от тях са от III група (с дефицит на витамин Д при раждането).

Таблица 25. Анализ на кислородозависимостта на 36 г.с. , по групи спрямо витамин Д при раждането

| О₂ на 36 г.с. | Iгр. > 30 | IIгр. 21 - 29 | IIIгр. < 20 | Общо |
|------------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-------------------|
| Деца без О ₂ на 36 г.с. | 17 (73,9%) | 30 (75%) | 40 (64,5%) | 87 (69,6%) |
| Деца с О ₂ <30% | 4 (17,4%) | 10 (25%) | 17 (27,4%) | 31 (24,8%) |
| Деца с О ₂ >30% | 2 (8,7%) | 0 (0%) | 5 (8,1%) | 7 (5,6%) |
| Общо | 23 (100%) | 40 (100%) | 62 (100%) | 125(100%) |

5.1. Анализ на честота на БПД спрямо нивата на витамин Д при раждане

Потърси се дали съществува връзка между бронхопулмоналната дисплазия и нивото на витамин Д при раждане на децата. Анализирани са 128 пациенти за наличие на БПД, съобразно новата класификация на БПД - кислородозависимост на 28 дни, като тежестта на БПД е основана на кислородозависимост на 36 г.с.[67]. За всяка от посочените групи се направи анализ на средното ниво на витамин Д при раждането. Децата са разпределени в следните категории.

1. гр. Деца без данни за БПД
2. гр. Деца с лека форма на БПД
3. гр. Деца със средно тежка форма на БПД
4. гр. Деца с тежка форма на БПД

Честотното разпределение на контингента показва, че **65,6%** от децата **не развиват БПД**. При останалите **леката и средно тежката** форми се срещат **еднакво често -14,8%**. Тежката форма се среща при **4,8%** от децата (**табл. 25**). Анализът между групите на БПД по отношение на нивото на витамин Д от пъпна връв показва, че няма статистически значима разлика (тест на Крускал-Уолис $P=0,714$).

Таблица 26. Сравнителен анализ на честота на БПД спрямо нивата на витамин Д при раждането

| БПД | N | % | Mean | Median | Minimum | Maximum | SD |
|-------|-----|-------|---------|---------|---------|---------|----------|
| 1 гр. | 84 | 65,6% | 21,9686 | 21,3000 | 3,00 | 68,22 | 13,38057 |
| 2гр. | 19 | 14,8% | 19,8900 | 20,0000 | 3,00 | 40,80 | 10,14979 |
| 3гр. | 19 | 14,8% | 17,7432 | 17,4000 | 3,00 | 41,21 | 10,82562 |
| 4 гр. | 6 | 4,8% | 20,9233 | 15,1500 | 3,00 | 42,93 | 17,34869 |
| Общо | 128 | 100% | 20,9838 | 19,8000 | 3,00 | 68,22 | 12,74608 |

Потърси се зависимост между средните нива на витамин Д и развитието на БПД в първоначалните групи деца на майки с нормален 25(OH)D, с недостиг и дефицит на витамин Д.

На следващата **табл. 27** са дадени средните стойности, медиани, минимална, максимална стойност, стандартно отклонение на витамин Д при раждането в различните групи БПД. При децата с тежка БПД (4 група) средната стойност в I група на децата с нормални нива на 25(OH)D при раждане средно е 27,05 ng/ml, а в групата на децата с дефицит на 25(OH)D е съответно 17,85 ng/ml.

Таблица 27. Сравнителен анализ по групи БПД и витамин Д (ng/ml) при раждането.

| BPD | Групи | N | Mean D | Median | Minimum | Maximum | SD |
|-------------|---------------------|-----------|----------------|---------------|----------------|----------------|-----------|
| 1 | I гр. нормални нива | 42 | 20,4555 | 19,9500 | 3,70 | 48,86 | 12,66848 |
| | II гр. недостиг | 4 | 44,1550 | 40,9000 | 26,60 | 68,22 | 17,41754 |
| | III гр. дефицит | 38 | 21,3055 | 19,8000 | 3,00 | 59,00 | 11,95516 |
| | Общо | 84 | 21,9686 | 21,3000 | 3,00 | 68,22 | 13,38057 |
| 2 | I гр. нормални нива | 9 | 17,7589 | 20,0000 | 3,00 | 30,50 | 10,10152 |
| | III гр. дефицит | 10 | 21,8080 | 20,9000 | 7,90 | 40,80 | 10,32979 |
| | Общо | 19 | 19,8900 | 20,0000 | 3,00 | 40,80 | 10,14979 |
| 3 | I гр. нормални нива | 5 | 14,1600 | 13,0000 | 5,00 | 21,20 | 6,50138 |
| | III гр. дефицит | 14 | 19,0229 | 17,7000 | 3,00 | 41,21 | 11,93992 |
| | Общо | 19 | 17,7432 | 17,4000 | 3,00 | 41,21 | 10,82562 |
| 4 | I гр. нормални нива | 2 | 27,0550 | 27,0550 | 12,30 | 41,81 | 20,86672 |
| | III гр. дефицит | 4 | 17,8575 | 12,7500 | 3,00 | 42,93 | 17,85753 |
| | Общо | 6 | 20,9233 | 15,1500 | 3,00 | 42,93 | 17,34869 |
| Общо | I гр. нормални нива | 58 | 19,7219 | 19,1500 | 3,00 | 48,86 | 12,08190 |
| | II гр. недостиг | 4 | 44,1550 | 40,9000 | 26,60 | 68,22 | 17,41754 |
| | III гр. дефицит | 66 | 20,6885 | 19,4000 | 3,00 | 59,00 | 11,86882 |
| | Общо | 128 | 20,9838 | 19,8000 | 3,00 | 68,22 | 12,74608 |

Не се установява статистически значими различия между групите по отношение на витамин Д при раждане ($P=0,714$). Точният критерий на Фишер показва също, че **няма статистически значима зависимост между развитието на БПД и витамин Д при раждането ($P=0,638$).**

При 48 от всички деца (37,2%) с кислородозависимост между 28 ден и 36 г.с. е прилаган курс с Dexamethazon по протокол на клиниката с добър клиничен ефект. При 28 от тях е използван еднократен стандартен курс, при 19 деца - двукратни курсове и само при 1 дете са приложени 4 курса (стандартна и кратка схема на Дексаметазон). При 81 от децата (62,8%) не е прилаган Дексаметазон. При 15 деца към лечението на БПД са добавени инхалаторни кортикостероиди /Flixotide, Pulmicort/, които са продължени и в домашни условия. При 32 деца лечението на БПД е придружено от прилагане на Спиринолактон, за да се ограничи употребата на фурантрил.

5.2. Остеопения на недоносените

В зависимост от нивата на витамин Д при раждане анализираме децата относно биохимичните показатели за остеопения на недоносеното. В международен мащаб липсва консенсус около точният биохимичен скрининг за остеопения на недосеното дете [39, 75, 90, 177]. Дискутабилни остават въпросите кога да бъде проведен скрининга и какъв да бъде точния обем на проследените изследвания.

Повечето автори препоръчват той да бъде регулярно провеждан от 4 постнатална седмица [90, 177] поради факта, че заболяването най-често се диагностицира между 6-12 седмица.

Според някои автори основно трябва да проследяват нивата на фосфора и алкалната фосфатаза [80, 136] докато други добавят и нивата на РТН [75, 143].

В настоящото проучване са проследени следните показатели- АР, Р, (2, 4, 6 и 8 постнатални седмица), РТН (2 и 8 седмица) и нива на витамин Д (първа връв и на 8 седмица). За патологична се приема стойност на **алкалната фосфатаза** над 500 U/l. Проследени са децата с нива на АР от 500 до 800 и тези с нива над 800 U/l. За серумният фосфор се приема долната референтна граница - под 1,6 mmol/l., като се потърси при колко от децата нивата на фосфора са под 1,1 mmol/l.

За нива на **паратхормон** се приема повишаването над горната граница на нормата > 65 pg/ml. Анализират се отделно децата, при които РТН е над 100 pg/ml.

Относно **витамин Д** се приемат посочените по-горе граници съответно: норма >30 ng/ml, недостатъчност 21- 29 ng/ml и <20 ng/ml дефицит.

Въз основа на установените вече корелации, се разглеждат децата отново по групи спрямо изходното ниво витамин Д. Потърси се колко деца показват отклонения от референтните стойности след 4 постнатална седмица за съответните маркери суспектни за остеопения - АР, Р, РТН и витамин Д.

За динамиката на алкалната фосфатаза се установява следното:

От **I гр. с витамин Д при раждането >30 ng/ml през 4 седм.- 3 деца/23** 13, 04% са били с алкална фосфатаза между 500 и 800 U/l (623, 67±57, 04) **на 6 седм.- 2 деца/16** 12,5% с АР (525, 50 ±7, 77), **на 8 седм. - 2 деца/20** 10% (723, 00±103, 23). В тази група **няма** дете с нива на АР над 800.

От **II гр. с витамин Д недостиг 21 - 29 ng/ml при раждането през 4 седм. -3 деца/37** или 8, 10% са били с алкална фосфатаза между 500 и 800 U/l (**577,00 ± 32,90**), през **6 седмица- 3 деца/26** или 11,5% -(563,66 ±39,51), **8 седмица - 2 деца/ 37** или 8,1 % (550,67±41,86) и **1 дете с нива на АР над 800 - 1023,00.**

От **III гр. с витамин Д дефицит** <20 ng/ml при раждането през **4 седм.- 5 деца** /58 или **8,6%** са били с алкална фосфатаза между 500 и 800 U/l ($572,80 \pm 50,46$), през **6 седм. - 4 деца**/45 **8,8%** ($594,50 \pm 76,83$) и **1 дете** >800 ($822,0$), **на 8 седмица - 6 деца**/56 **10,7%** ($600,33 \pm 125,26$) . В тази група също **няма** дете с нива на АР над 800.

Не се установява значителни различия в отделните групи. Нивата на АР следват физиологичното покачване на показателя, само при две деца е над 800 на 6 и 8 седмица.

За динамиката на фосфора се установява следното:

От **I гр. с витамин Д** при раждането >30 ng/ml през **4 седм.- 10 деца**/23 или **43,4%** серумният Р е под 1,6 mmol/l ($1,18 \pm 0,27$) като при 4 тези деца е под 1,1 mmol/l ($0,91 \pm 0,16$), **на 6 седм.- 8 деца**/20 или **40%** имат Р ($1,25 \pm 0,24$) при 2 от тях Р е под 1,1($1,91 \pm 0,2$) **на 8 седм. - 4 деца**/20 **20%** ($1,45 \pm 0,07$). В тази група **няма** дете със серумен фосфор под 1,1 mmol/l .

От **II гр. с витамин Д**- 21 - 29 ng/ml при раждането през **4 седм. -9 деца**/37 или **24,3%** са били с Р под 1,6 mmol/l ($1,25 \pm 0,31$), 3 от тях са с Р $<1,1$ ($0,62 \pm 0,54$), през **6 седм.-7 деца**/28 **25%**-($1,18 \pm 0,31$) от тях 2 са с Р под 1,1($0,75 \pm 1,1$), **8 седм.- 8 деца**/ 37 или **21,6%** ($1,30 \pm 0,26$) от тях 1 дете с Р $<1,1$ mmol/l - 0,71.

От **III гр. с витамин Д** <20 ng/ml при раждането през **4 седм.- 26 деца** /58 или **44,8%** имат Р $<1,6$ mmol/l ($1,19 \pm 0,30$), от тях **9 деца са с Р** $<1,1$ ($0,84 \pm 0,17$), през **6 седм. - 13 деца**/45 **28,8%** ($1,18 \pm 0,22$) като от тях **4 деца** $<1,1$ ($0,90 \pm 0,1$), **на 8 седмица - 7 деца**/55 **12,7%** ($1,2 \pm 0,22$). Като от тях 3 деца са със серумен фосфор под 1,1($1 \pm 0,08$).

От анализа се установява, че при трите групи деца има тенденция към покачване на серумният фосфор за периода 4-8 седмица. Децата от

III гр. с дефицит на витамин Д при раждане са най-голям брой на поднормени нива на фосфора на 4 седмица, като по-голяма част го нормализират на 8 седмица. На осма седмица средно 18% от всички деца остават с Р под референтна граница. Само 4 деца / **3,5%**/ на двумесечна възраст остават със серумен фосфор под 1,1 mmol/l .

За динамиката на паратхормона се установява следното:

От **I гр.** с витамин Д при раждането >30 ng/ml на 8 седмица с повишен РТХ >65 pg/ml са **9** от общо 20 деца имат средно ниво $174,88 \pm 123,70$, или 45%. При **7** от децата нивото е над **100 pg/ml** $199,18 \pm 131,55$. **Максимално ниво за групата е 464 pg/ml.**

От **II гр.** с витамин Д- 21 - 29 ng/ml при раждането на 8 седм. с повишен РТХ > 65 pg/ml са **16** от общо 35 деца имат средно ниво $182,12 \pm 110,63$, или 45,71%. При **13** от тях нивото > 100 pg/ml $205,85 \pm 109,51$. **Максимално ниво за групата е 511 pg/ml.**

От **III гр.** с витамин Д < 20 ng/ml при раждането на 8 седм. с повишен РТХ >65 pg/ml са **29** от общо 56 деца имат средно ниво $150,92 \pm 73,07$ или 51,78%. При **21** деца са с нива е над **100 pg/ml** $178,74 \pm 67,05$. **Максимално ниво за групата е 384,60 pg/ml.**

Анализът по групи на РТН показва, че настъпват промени в нивата му и при трите групи. **Най- високи стойности и с най-висока честота това се наблюдава при децата с недостиг и дефицит на витамин Д.**

Динамиката в нивата на витамин Д в трите групи деца на 8 седмица е показана на **таблица 10** и **таблица 11**. Различните суплементиращи дози на витамин Д₃ обуславят различни промени в групите. От всички проследни пациенти в края на проучването 28 деца остават с недостиг на витамин Д, а 34 деца са с дефицит. По-високата супле-

ментираща доза води до по-значително повишение на нивата на витамин Д (фигура 11 и фигура 12).

На базата на този анализ може да се заключи, че най-значими промени със съответните корелационни зависимости настъпват при нивата на паратхормон, АР и витамин Д (фигури 11, 12, 15, 16, 17).

VI. ОБСЪЖДАНЕ

Витамин Д играе важна роля в човешкото тяло за поддържане на нормални нива на калция, фосфора, есенциални процеси като костната минерализация, контрактилитета на мускулите, активността на нервната система и клетъчната функция. Особено застрашени от недостига му са бременните жени, преждевременно родените и децата с интраутеринна хипотрофия. Майчините нива са потенциално важни за стартовите нива при детето.

Редица изследвания от различни части на света съобщават за превалиране на дефицита на витамин Д у бременни и техните новородени. Данни се за дефицит са следните: 80% за родилките в Иран [28], Индия-84,3% от изследваните бременни [179], 20 % -за Израел [150], 68,9% - за Египет [68], 35.8% до 50% от родилките с дефицит САЩ [117, 134], 38,5% дефицит за Австралия [234], до 96,8% дефицит при бременни жени /Пекин, Китай през зимата/ [196].

Европейски проучвания показват по-ниски концентрации на серумни 25(ОН)D концентрации в пъпна връв [153, 215] в сравнение с тези от САЩ [37, 92, 134].

За страните от **Европа** данните показват следната честота: **79,5%** до **90,6%** от родилките Турция [88, 157, 158], **31%** недостиг и **18%** дефицит при жени родили на термин за Великобритания [106], **34,3-52,6%** от изследваните бременни в Ирландия [156], **66%** от родилките в Белгия

[105], **85%** от бременните са с недостиг и **28 %** с дефицит през зимата за Швеция [40].

Метаанализ относно разпространението на хиповитаминоза Д сред бременните жени в Средиземноморския регион, съобщава за висока честота на поднормени нива на витамин Д - **50-65%** в обхванатите публикации [108]. За съседните на България страни от Балкански полуостров проучване на Nikolaidou P и съавт., 2006 год. за Гърция съобщава за 19,5% дефицит при жени родили на термин и 8,1% от новородените [153].

Halioglu O и съавт., за Турция през 2012 година съобщават, че нивата на 25(OH)D от пълна връв при 50,3% от доносените са $<10 \text{ ng/ml}$ [88]. Едно от последните проучвания от 2013 год. за същият регион потвърждава тежкия витамин Д дефицит при двойките майка-бебе при 95% от жените нивата са $<20 \text{ ng/ml}$, а всички проби от пълна връв са с нива $<20 \text{ ng/ml}$ [157].

В настоящото проучването са обхванати **111** жени, родили преди **32** г.с. и техните **129** новородени с тегло при раждане **под 1500 гр.**

Честотното разпределение на **нивата на витамин Д на жените от проучването** показват превалиране на витамин Д дефицита. Жените с дефицит на витамин Д са **65,77%** от изследваните като нивата на 25(OH)D са 3-19,90 ng/ml, средно **(11,14 ng/ml \pm 4,95)**.

При **19,82%** от жените е налице недостиг на витамин Д със средно ниво на 25(OH)D - от 20-28,51 ng/ml **(23,66 ng/ml \pm 2,82)**. Общо **85,59%** от жените имат поднормени нива на витамин Д при раждането /**таблица 6/**. При **14,41%** от майките 25(OH)D е в норма от 30,10 до 69,06 ng/ml със средни нива от **39,33 ng/ml \pm 10,47**. Данните са сходни с тези на някои от посочените европейските страни [40, 88, 158]. Сред анкетираните от проучването жени няма значими различия в начина на живот, хранене и обличане.

Приема на мултивитаминни препарати не е масово разпространен в изследваният контингент. Нито една от майките не е приемала самостоятелно витамин Д, нито била е информирана по проблема за неговият дефицит. Стандартните мултивитаминни препарати препоръчвани за бременни жени в България съдържат 400IU/табл.

За редовен приема на мултивитаминни препарати съобщават **45 %** от анкетираните жени, като нередовен прием има при **17%**, а малко над една трета- **38%** липсва такъв. Установява се, че има статистическа значима разлика между стойностите на витамин Д в групите на приемали и не приемали ($P < 0,05$). Майките получавали мултивитаминни препарати повече от 1 месец имат по-високи нива на витамин Д спрямо тези без прием /таблица 3/.

Зависимост се установява между групите с нередовен прием (под 1 месец) и не приемалите мултивитаминни препарати ($P < 0,05$). От това следва, че краткия едномесечен прием е недостатъчен и не води до покачване нивата на 25(OH)D .

Сходни данни през 2014 год. публикува полски екип като **35,2%** от изследвани 88 жени не са приемали изобщо мултивитаминни препарати. Честотата на дефицита в проучването е съответно **31,8%**, и недостиг при **26,1%** от жените [192].

В проучване на Bodnar проведено през 2007 година в Питсбърг /Северните части на САЩ/ над **90 %** от изследваните **400** бременни приемат редовно пренатално мултивитаминни препарати [37]. Въпреки приема при **29,2%** -**54,1 %** от цветнокожите жени са с недостиг, респективно дефицит на витамин Д. За жените със светла кожа дефицита варира от **5 %** до **42,1%**. При новородени разпределението е сходно-**45,6%** -**46,8%** за цветнокожи доносени, **9,7%**-**56,4 %** новородени със светла кожа.

Проучване от Китай проведено през 2010-2011 година върху **125** бременни жени показва, че пациентките приемали мултивитаминни пре-

парати имат сигнификантно по-висок витамин Д спрямо неприемалите [196].

Запазва се риска за развитието на витамин Д дефицит дори, когато майките са приемали пренатално мултивитаминни препарати. По-високата суплементация би подобрила майчиният витамин Д статус.

В изследвания от нас контингент жени преобладават примипарите - **82 (73,8%)**, съответно мултипарите **29 (26,1%)**. В проучване проведено през 2012 год. в САЩ и обхващащо 131 жени със заплашващо предтерминно раждане (< 35 г.с.) се установява, че витамин Д статуса в средата на бременността не се асоциира с рецидивиращи предтерминни раждания [207].

В нашето проучване **24 от жените (21,62%)** са с асистирана репродукция. Проучване проведено в клиника през 2011год. дава почти идентична честота -21,14% [4]. Тези пациентки съобщават, че по-голяма част от бременността са прекарвали на закрито, при постелен режим, с липса на излагане на слънце. Само 15 от жените с асистирана репродукция са приемали редовно мултивитаминни препарати, 5 пациентки са имали нередовен прием- под 1 месец за целия период на бременността, а 3 жени не са приемали изобщо.

При механизма на раждане преобладава оперативното родоразрешение: 71 жени (64 %) с цезарово сечение, съответно 40 жени (36 %) предтерминно раждане по нормален механизъм. По-високата честота на оперативно родоразрешение се дължи на активното акушерско поведение при предтерминно раждане. Честотата е сходна в повечето проучвания в страната и чужбина– 63%/ 32% проучване на Клиника по неонатология [4], 40-61,5 % [101, 200].

Превалирането на хиповитаминоза Д вероятно има отношение в мултифакторната етиопатогенеза на предтерминното раждане.

По отношение на **заболеваемостта на нашият контингент** най-висока е честотата на предтерминно раждане при установена инфекция **45,95%** от жените, последвано от преекламписия **25,23%**, плацентарна патология **9,91%**, гестационен диабет **1,8%** и други усложнения **17,11%** /таблица 4, фигура 4/.

Около 25-40% от всички предтерминни раждания се асоциират с интраутеринна инфекция [82].

Витамин Д е важен за регулацията на клетъчно-медиераният имунен отговор, затова недостатъчността и дефицита му през бременността могат да повишат възпалителните процеси и увеличат риска от предтерминно раждане.

В нашето проучване на първо място като причина за предтерминното раждане е доказана клинично-лабораторно **майчина инфекция** при родилките в **45,95 % / фигура 4 /**, което е сходно с това в световен мащаб.

В проучване в Полша публикувано през 2014 год. относно витамин Д статуса при 102 здрави бременни установява, че бактериалната вагиноза е сигнификантно най-честа при жените с дефицит и недостиг на витамин Д. Авторите съобщават за наличие на статистически значима връзка между рецидивиращи респираторни заболявания при децата от проучването и майчиния дефицит. Това предполага, че витамин Д може би играе роля за превенция от дихателни инфекции [193].

Други автори също установяват връзка между ниските нива на витамин Д и бактериална колонизация на околоплодните мембрани [13, 35, 84].

Проучване от Великобритания, анализиращо 11 публикации с включени 20, 232 пациентки установява, че бактериалната вагиноза сигнификантно увеличава рискът от предтерминно раждане и майчина инфекция [120].

Обсъжда се, че приема на витамин Д като хранителна добавка има потенциала да промени бактериалната флора и следователно да предпази от заплашващо предтерминно раждане. В подкрепа на тази хипотеза обаче липсват достатъчни рандомизирани проучвания, които да оценят точността и потенциалните ползи от тази евтина профилактика [56]. Все още обаче остава неясен точния механизъм на влияние на витамин Д върху антенаталния възпалителен процес.

На второ място като усложнение на бременността е преек-ламписията.

В нашето проучване при **25,23%** от майките бе установена преекламписия, което е съпоставимо с честотата в други проучвания относно връзката между дефицита на витамин Д и развитието на това заболяване [26, 30, 33].

При статистическият анализ на нашите резултати /тест на Крускал – Уолис ($P=0,025$) и Post-hoch тест на Dann/, се установи статистически значима разлика между групите на майки с преекламписия и тези с инфекция, както и между майките с преекламписия групата на жени с други заболявания по отношение на нивата на витамин Д ($P<0,05$).

Abedi P., Mohaghegh Z., et al. в проучване публикувано през 2014 година при изследвани 59 жени с преекламписия и 59 контроли, установяват статистически сигнификантна зависимост между витамин Д дефицита и развитие на преекламписия [8].

Данните за връзката между ниски нива на витамин Д и развитието на преекламписия са нееднозначни. Редица автори смятат, че няма разлики в риска от развитието на това заболяване при жени с дефицит и такива с нормални нива на витамин Д [42,187].

Публикувани са и множество проучвания за асоциация помежду им [33, 58, 91, 139, 140, 191, 201, 226, 229]. Метаанализ върху 31 проучвания на Aghajafari F et al. публикуван през 2013 година установява,

че недостигът на витамин Д се асоциира със следните усложнения: прееклампсия, гестационен диабет, бактериална вагиноза и интраутеринна ретардация на плода [13].

Мащабно проучване публикувано през **2009** год. и проведено в **Норвегия** при 23 423 бременни установява, че риска за прееклампсия намалява с 27% при жени приемали витамин Д 600-800 IU/дн. в сравнение с неприемалите. Авторите изказват хипотезата, че витамин Д може би има протективен ефект върху развитието на това заболяване. Отразен е и факта, че приемът на витамин Д е силно свързан с прием на дълговерижни Ω -3 мастни киселини в норвежкото хранене, което вероятно е допълнителен усилващ фактор [91].

През **2012** год. **Канадско** мултицентрово проспективно проучване при 697 жени установява, че по-ниски нива на 25(OH)D в 24-26 г.с. увеличават риска за прееклампсия в сравнение с жените с нормални нива [225]. Проучване на Ullah MI, Koch SA et al. установява 5кратно нарастващ риск за прееклампсия при жени с дефицит на витамин Д [213].

През **2013** год. се публикуват данни за проследени 1141 жени, при които се установява, че увеличението на паратхормона корелира с дефицит на 25(OH)D и увеличаване риска от прееклампсия с 2,86 пъти. Установена е обратнопропорционална връзка между ниските серумни нива на витамин Д, покачването на системното артериално налягане и нивата на паратхормона [183].

По данни на Sinqla R et al. - Индия от **2014** год. при изследвани 74 жени с прееклампсия 84%, от които са със сигнификантно по-ниски стойности на витамин Д в сравнение със здравата контролна група [191].

През **2014** година е публикувано мултицентрово проучване в САЩ обхващащо 792 високо рискови за прееклампсия жени, което установява, че поднормените нива на витамин Д във втори триместър се асоциират с риск от ИУХ [79].

В **нашето проучване** при едва 2 пациентки бе установен **гестационен диабет** придружен с хидрамнион. Този малък брой не е показателен за сравняване с останалите групи.

Проспективно проучване от Испания обхванало 2382 двойки майка-бебе от 2003-2008 година не намира доказателства за връзка между витамин Д статус през бременността и риска от гестационен диабет, предтерминно раждане и ИУХ. Достатъчните нива на 25(OH)D ≥ 30 ng/ml може би редуцират риска от цезарово сечение [171]. Ролята на майчиният витамин Д и риска от развитието на гестационен диабет още не е достатъчно изяснена.

При мета-анализ публикуван през 2012 год. и проведен въз основа на 7 проучвания обхващащи 2146 жени, от които 433 с гестационен диабет е налице значима обратна връзка на серумния 25(OH)D и честотата на гестационния диабет. Остава неясно дали тази връзка е причинно-следствена и дали суплементацията с витамин Д би подобрила гликемичния контрол при жени с гестационен диабет [162]. Сходни са данните от анализа на Senti J et al. върху проучвания от 1999 до 2011 год. пет, от които доказват същата обратнопропорционална връзка между витамин Д дефицита и нарушеният глюкозен толеранс [186].

Проект VIVA 2012 год.- включващ 1314 бременни с изследване на серумно ново на 25(OH)D в 26-28 г.с. и глюкозотолерантен тест показва, че глюкозните нива са обратнопропорционални на нивата на витамин Д, от което би могло да заключи, че дефицита може би увеличава риска от гестационен диабет [43].

Малкият брой участници, включени при нас не позволява да се направи статистически достоверен извод.

При **9,9% от проследените от нас жени** се установява като причина за преждевременното раждане, настъпили **плацентарни нарушения**- абрупцио плаценте, плацента превиа с кървене.

Ние **не установяваме** статистическа връзка между витамин Д дефицита и плацентарната патология. През последните години е публикувано едно проучване търсещо връзка между витамин Д дефицита при бременните и плацентарната васкуларна патология. Gernand AD, Vodnar LM.et al. установяват, че при жените с нормални нива на витамин Д 49% се намалява риска за плацентарни нарушения ако децата от мъжки пол. Същото проучване не установява такава връзка при жените с деца от женски пол [78].

Групата на жените с други усложнения като причина за предтерминното раждане е немалобройна, но и нехомогенна - **17,11%**. Към нея спадат следните усложнения- неповлияване от токолитична терапия, мониторни данни за фетално страдание, тромбофилия, две родоразрешения поради фетус мортус на единият близнак, хронични несвързани с бременността заболявания и др. Разликите в причините за раждането не позволяват да се направи цялостен, точен извод относно тях и поднормените нива на витамин Д.

В световен мащаб няма универсални препоръки за дози и прием на витамин Д от бременните.

СЗО в своята последна ревизия на Guideline:Vitamin D supplementation in pregnant women **2012** препоръчва при установен дефицит през бременността дневен прием на **200 IU/дн.**, или според национално приетите препоръки [85].

Повечето държави са изградили национални политики за препоръки за прием на витамин Д при бременните жени. Някои автори препоръчват 200-400 IU/дн. за Канада и Великобритания [81].

Според други доза от 1000 IU/дневно D₃ поддържа нива на витамин Д над 20 ng/ml [98, 137, 219], или единична доза от 200 000 IU в трети триместър, или 5000 IU седмично.

В САЩ препоръките на Institute of Medicine сочат за дневен прием от 400 до 600 IU, като дневни дози 2000 IU и 4000IU се считат за горна граница [104]. В проучване от 2013 год. се установява при изследвани 100 двойки майка-бебе пренаталният прием от 400 IU/дн. не протектира срещу витамин Д дефицит дори и в района на тропиците –Хавай, САЩ [89].

В Полша от 2009 год препоръчват на всички бременни от втори триместър прием на витамин D₃ в доза 800-1000 IU/дн. [48,192].

При анализ на De-Regii LM. et al. публикуван през 2012 год. на базата на 6 рандомизирани контролирани проучвания се установява, че няма доказателства витамин Д суплементацията при бременни да предпазва от прееклампсия, гестационен диабет, предтерминно раждане, увеличен процент на цезарово сечение или неонатална инфекция. Резултатите от същия анализ достигат до извода, че осигуряването на витамин Д суплементацията подобрява майчините витамин Д нива на термин [62].

Мета анализ на Thorne –Lyman et al. потвърждава, че витамин Д суплементацията подобрява майчините нива във всичките 5 обхванати проучвания [206].

В едно от последните проучвания публикувано през **март 2015 год.** Rodda CP. et al. установява, че приема на витамин Д от 2000-4000 IU/дневно повишава майчините серумни нива и предпазва от неонатален дефицит [170].

В България липсва мониториране на серумните нива на бременните затова ние ще препоръчаме скриниране през втори триместър при жени с усложнения. Успоредно с това е необходима колаборация

между акушер-гинеколога и неонатолога за измерване на нивото на витамин Д при всяко новородено на майка с диагностициран дефицит или недостиг.

Нашето проучване потвърждава **установената позитивната корелация между нивата на витамин Д на майките и техните деца при раждането /фиг.6/**. В две различни проучвания на Lee et al. от 2007 и Monangi et al. 2012 в САЩ установяват сходна позитивна корелация в изследваните двойките майка-бебе [117, 141]. Белгийско проучване през 2011год. обхванало 94 двойки майка –бебе родени на термин потвърждава строгата корелация между нивата при майката и тези от пъпната връв [105].

За съседна Турция в проучване от 2013год. се съобщава аналогична позитивна корелация между нивата при майките и тези от пъпна връв [157].

Възможността проучването да обхване всички сезони в България показва, че има ясна сезонна зависимост между нивата на витамин Д и риск от дефицит през зимните-пролетните месеци за бременната жена и нейното дете. Установеното понижение е сигнификантно **/фиг.8, фиг.9, фиг.10 /**.

Сезонна промяна в нивата на витамин Д при бременните от зима към пролет и от пролет към лято е установено за САЩ / северни щати и Хавай/, Канада, Израел, Гърция [37, 89, 150, 194, 153].

Понижаване на нивата на 25(OH)D през зимата отбелязват проучвания за Ирландия, Швеция, Китай [40, 156, 196].

Сезонност е описана при жени с прееклампсия, които показват сигнификантно по-ниски стойности на витамин Д през зимата спрямо летният период, като такава не е отчетена при здравите контроли [116]. При направен обзор от Andrew Thorne-Lyman и Wafaie W. Fawzi през 2012

година от обхванати 5 рандомизирани проучвания не се установява сигнификантна асоциация между витамин Д суплементацията и продължителността на бременността [206]. В същият обзор при две от проучванията в Холандия и Австралия се съобщава, съответно за по-дълга продължителност на бременността при жени с нормален витамин Д-Холандия 2010 год [119], респективно по-кратка с 0,7 седмици при жените с дефицит -Австралия [145].

През последните години нарастват проучванията посочващи връзка между дефицита на витамин Д и предтерминното раждане [36, 208].

Публикувано през 2011 год проучване в Япония при 93 бременни, изследвани нива на 25(OH)D в 30 г.с. е налице висок процент на дефицит на витамин Д- **89,5%**. Жените със заплашващо предтерминно раждане са показали сигнификантно по-ниски нива от тези с раждане на термин [188].

Thota C, Menon R и Fortunato SJ. през 2014 год. публикуват проучване според, което серумните нива изследвани при родили преди 34 г.с -192 жени от европейден и афро-американски етноси, имат сигнификантно по-ниски нива спрямо родилите на термин. Авторите смятат, че наличието на асоциация между ниски нива на 1,25(OH)₂D и предтерминно раждане, би могло да се използва като нов диагностичен маркер за откриване на заплашващо предтерминно раждане [208].

Проучване, публикувано през ноември 2014 год. чрез трикратно проследяване на нивата на витамин Д през бременността установява, че майчиният витамин Д статус близо до раждането е сигнификантно свързан с предтерминното раждане. Лечението с витамин Д може да повлияе положително върху риска от предтерминно раждане като серумни концентрации от 40ng/ml (100nmol/L) в трети триместър се асоциират с намаляване с 47% на предтерминните раждания [223].

При мултицентрично проспективно проучване в САЩ публикувано 2013 год. от проследените 211 двуплодни бременности по-ниските

витамин Д нива във втори триместър (49,4% от жените) се асоциират с по-висок риск от предтерминно раждане спрямо групата на жени с нормални нива (26,2%) [36].

В нашето проучване бе насочено към рисковата популация на предтерминно родените деца, затова бъдещи проучвания биха могли да допринесат за съпоставяне на витамин Д статуса между предтерминното раждане и това на термин.

Витамин Д статус при децата от проучването

От **129** предтерминно родени деца от проучването при раждане поднорменни нива на 25(OH)D има при **105**. Като **65 (50,4%)** деца са с изразен дефицит от 3-19,60 ng/ml със средно ниво **10,80±4,6 ng/ml**. Недостиг на витамин Д при раждането има при **40 деца (31%)** с нива от 20-30 ng/ml със средно ниво **25,05 ±2,8 ng/ml**.

Само при **24 (18,6%)** от новородените стартовото ниво на витамин Д от пълна връв е в норма от **30,01-68,22 ng/ml** при средно ново **41,17±9,17 ng/ml**. /таблица 7/.

Установява се статистически значима, положителна корелационна зависимост между серумните нива на витамин Д на майките и нивата от пълна връв (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,775) ($P < 0,0001$) /фигура 6/. Изследването на серумните нива на витамин Д при бременните може да се използва като прогностичен критерии за нивата на недоносените при раждане. Това потвърждава тезата, че дефицита при майката е главен рисков фактор за дефицит при новороденото.

Майчината витамин Д суплементация би имала позитивен ефект върху нивата на 25(OH)D при новороденото дете. В нашето проучване **не** откриваме корелация между ниските нива на витамин Д и по-ниското тегло при раждане.

Bowyer и колектив в проучване проведено в Австралия през 2009 год. съобщават за връзка между витамин Д дефицит при бременни изследвани от 23 до 32 гс. и по-ниското тегло при раждане на термин за изследваната популация [38].

В проучаването използваме препарат съдържащ Д₃ – холекалциферол, тъй като той се резорбира по-добре, по- ефективно увеличава серумните концентрации на 25(OH)D от 3 до 4 пъти и е с по-дълготраен ефект спрямо Д₂ ергокалциферол [19, 212].

При стартирането на проучването **34** деца получават **667 IU/дн.** средно от третата постнатална седмица. На осма седмица при тези деца **не се получи** очакваното от екипа повишение на витамин Д нива /**таблица 10**/. Две трети от децата приемали по- ниска доза (**667IU/**) или **21** деца не достигат нормални серумни нива на 8 седмица /**фигура 11**/.

При останалите **95** недоносени деца дозата се повиши двукратно-холекалциферол Д₃-**1334 IU/дн.** На двумесечна възраст- **47 (53,4%)** от децата получили витамин Д в 1334 IU/дн. достигат нормални серумни нива /**таблица 11 и фигура 12**/. При **24 (27,3%)** от децата, въпреки суплементацията с двойно по-голяма доза, техният витамин Д остава в дефицитните нива средно 25(OH)D -12, 98±4,26 ng/ml.

Нито едно дете от нашето проучване не показва екстремно високи нива на витамин Д. Максималното измерено ниво на 8 седмица е 68,40 ng/ml.

В края на проучването може да обобщим, че от проследените до двумесечна възраст **117 деца - 55 деца (47%)** имат нормални нива на витамин Д, **28 деца(24%)** са с недостиг и **34 деца (29%)** са с дефицит. Коя тогава е тяхната оптимална доза?

Мониториранието на двумесечна възраст би осигурило индивидуален подход на профилактика и лечение с витамин Д.

По време на хоспитализацията ниските стартови нива при раждане, субоптималният витамин Д внос, липсата на излагане на слънце са част от факторите водещи до нисък витамин Д статус.

През последните години се публикуват редица проучвания относно честотата на витамин Д дефицита при новородени и различни дози на суплементация с витамин Д.

През 2014 година Burrig NH et al. публикуват проучване проведено в САЩ обхващащо 471 новородени в Бостън, при които е измерено нивото на 25(OH)D в пълна връв. Авторите установяват, че децата родени преди 32 г.с. имат по-висок риск за дефицит на витамин Д (под 20 ng/ml) спрямо по-зрелите деца [44].

Мултицентрово проучване в САЩ през **2010-2012** год. изследва 120 деца родени преди 32 гс. при 65% от децата и 63% от майките са налице поднормени серумни нива на витамин Д при раждане. При дневен прием от 400 IU те се проследени до 36 г.с. При изписване 40 % родени под 28 гс. и 30% родени между 23-32 г. остават с поднормени нива [141].

Проучване публикувано през **2014** год. съобщава, че дневна суплементация от 800 IU/дн. при предтерминно родени деца редуцира дефицитът на витамин Д на 3 месечна коригирана възраст в сравнение с деца приемали 400 IU/дн, без да е налице значително подобрене на костната минерализация. Само при едно дете са отбелязани ексцесивни нива на витамин Д [147].

Според препоръките за Австралия и Нова Зеландия дневната доза D₃ за деца е 400 IU/дн., като при установяване на дефицит се препоръчват следните дози за период от 3 месеца- 1000 IU/ дн. при възраст под 1 месец, 3000 IU/дн. при възраст от 1 до 12 месеца и 5000 IU/дн. при деца над 1 година [146].

Финландско проучване публикувано през **2012** год. изследва 113 родени на термин деца с различен прием на витамин Д от 400, 1200 и 1600

IU/дн. за среден период на проследяване от 10,7 седмици. Увеличението на нивата на витамин Д е сигнификантно по-голямо при групите с дози 1200 и 1600 IU/дн. Всички деца получавали доза от 1600 IU/дн. са с нормални нива на витамин Д на 3 месец ≥ 80 nmol/l без да са наблюдавани хиперкалциемия или хиперкалциурия. Серумните нива на калций и паратхормон остават сходни в групите [100].

През **2013** год. канадски екип публикува сходно проучване в контингент 132 родени на термин деца и проследени от 1 до 3 постнатален месец. Децата са приемали D_3 в дози 400, 800, 1200 и 1600 IU/дн. за проследеният период. В края на проучването над 97,% от децата получавали 1600 IU/дн. достигат нормални нива на витамин Д ≥ 75 nmol/l [77].

Според проучване на Reinken L et al. при 23 VLBW деца с прием на витамин D_3 от 7 постнатален ден в доза 1000IU/дн. се наблюдават следните промени: нормални и леко покачващи се нива на витамин Д съпроводено от леко покачване последвано от понижаване на нивата на паратхормона на 28 и 56 тия ден на проучването [166].

Проучване на Backström MC et al. на 39 недоносени заключава, че при доза 960 IU/дн. серумните нива на 25(OH) D са по-високи, но по-ниските дози от 200-400 IU/дн. обаче също поддържат нормален витамин Д статус и костна плътност [24].

Липсата на унифицирани препоръки в световен мащаб за дози при предтерминно родените деца и малобройните проучвания върху тази рискова група може да обобщим, че е необходим индивидуален подход за проследяване и суплементация при децата. Установяването на поднорменни нива при бременната, от една страна е обективна причина за изследване на предтерминно роденото дете, а от друга за повишен внос на витамин Д в дози от 800 до 1500 IU/дн. още от първите дни след

раждането. Така ще се постигне по- бърза корекция на ниските плазмени нива.

Динамика на витамин Д статуса при новородени с ИУХ

За изследвания от нас контингент, новородените с интраутеринна хипотрофия са **13,17%** от всички. Това представлява сравнително нисък процент, въпреки това ние разгледахме настъпилите промени във витамин Д статуса. Достигането на нормални нива на 8 седмица е отчетливо сред децата, родени с ИУХ **/фигура 13/**. Нашите пациенти от групата с $\text{ИУХ} \leq 3$ със средни нива на 25(OH)D **24,90±11,86** ng/ml при раждане, показват изразено покачване на 8 седмица - **38,10±16,43** ng/ml. При групата с тежка $\text{ИУХ} \leq 10$ покачването е двойно по-голямо от **13,90 ±9,83** ng/ml на **32,58±18,82** ng/ml **/таблици 12 и 13/**. Усиленият постнатален растеж и по-зрелите механизми на витамин Д обмяната вероятно са причина за този феномен.

Близки до нашите данни дават Aydoqmus et al. в проучване проведено в Турция от 152 здрави бременни, витамин Д дефицит има при 44,6% от жените. Децата с ИУХ са 16,66% при жените с дефицит на витамин Д, срещу 4,87% деца с ИУХ при майките с нормален витамин Д. [21].

Проучване проведено от Lefferlaar et al. от 2010год. в Холандия обхванало 3730 родили на термин жени също показва, че при жените с по-нисък витамин Д новородените са с по-ниско тегло, риска да дете с ИУХ е по-висок. Децата на тези жени показват акцелериран растеж през първата си година [119].

В проучване публикувано в САЩ от от изследваните 1067 двойки майка-бебе със светла кожа и и 236 цветнокожи двойки, интраутеринна хипотрофия се установява при 4,5 % от децата. Те съобщават, че майчиният дефицит във втори триместър се асоциира с по-висока честота за дете с интраутеринна хипотрофия, като превалират данните при

цветнокожите двойки [41]. Според Rodriguez A. et al. не се открива зависимост между витамин Д дефицита на майката и раждане на дете с ИУХ [171].

Липсват достатъчно проучвания върху витамин Д статуса и децата с ИУХ. По-нататъчни изследвания върху тази специфична категория недоносени деца биха внесли яснота относно сложната регулация на витамин Д обмяната и ускореният постнатален растеж.

Динамика на бихимичните маркери за костна обмяна при предтерминно родените деца

Проследяваме децата относно настъпващите промени в концентрациите на общ и йонизиран Са, Р, алкална фосфатаза и паратхормон. Нивата на паратхормона са изследвани двукратно за проследеният период- на 2 и 8 седмица. Всички показатели са съпоставени на 8 седмица, успоредно с второто контролно изследване на витамин Д.

Ние установяваме, че при новородените от нашето проучване **нивата на йонизираният Са** показват слаба, но статистически значима корелационна зависимост (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,303)(P<0,0001), която се запазва и на 2 седмица (-0,197)(P<0,028). Ниските нива на витамин Д от пъпна връв водят до по-нисък Са⁺⁺ до края на втората седмица, без да се отразява на нивата на общия Са. Вероятно недостига кумулиран през хиповитаминозна бременност не би могъл да се компенсира така бързо след раждането.

Други автори също посочват, че майчиният витамин Д статус влияе върху неонаталната костна хомеостаза, като децата на майки с нисък витамин Д през бременността имат ниски нива на серумните калциеви концентрации през първата седмица от живота [99].

Ние не установяваме подобна зависимост за първата постнатална седмица.

При предтерминно родените деца препоръчваме по-ранен внос 7-10 ден с цел по бързо натрупване на витамин Д. Това би предотвратило по-нататъчните промени в биохимичният костен метаболизъм, а именно покачването на паратхормона и алкалната фосфатаза през следващите седмици.

Дискутира се как точно да се интерпретира повишаването на АР в неонаталният период като повечето автори са на мнение, че оценката на нивата ѝ трябва да се комбинират с други серумни и изобразителни техники [211]. Тя е показател, който отразява сумата от костната, чернодробна и интестинална изоформа. Костната изоформа представлява около 90% от тоталната, затова тя се явява сигурен маркер за костна минерализация. Нейните концентрации се увеличават с увеличена костна целуларна активност [115]. Алкалната фосфатаза е показател, който физиологично се покачва в първите седмици от живота, достигайки плато към 5-6 постнатална седмица [177].

В нашето проучване се приемат за норма следните нива на АР 110-406UI/l [203]. За периода на проследяването **алкалната фосфатаза**, показва леко покачване след 2 седмица, като средните стойности се запазват в референтни граници **/таблица 18 и фигура 15/**.

От проследяването на **паратхормон** установяваме покачване на 2 и 8 седмици, което е статистически значимо (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,192)(P=0,045) **/таблица 19/**.

Промяната в АР и РТН се съпоставят на 8 седмица с контролните нивата на 25(OH)D. Анализът показва наличието на две важни зависимости:

- Отрицателна корелационна зависимост между РТН и витамин Д на 8 седмица (непараметричен коефициент на корелация на Спирман -0,655)(P<0,0001) **/фигура 16/** Потвърдена от следното линейно регресионно уравнение:

Витамин Д 8 седмица =40,007-0,09. Паратхормон на 8 сед.

- Отрицателна корелационна зависимост между витамин Д на 8 седмица и нивата на алкалната фосфатаза на 8 седмица. (непараметричен коефициент на корелация на Спирман-0,225)(P=0,017) /фигура 17/.

От това следва, че повишените концентрации на РТН и АР на двумесечна възраст могат да се използват за прогнозиране на дефицита на витамин Д.

Нашите резултати са сравними с тези на Zeghoud et al., които съобщават, че неонаталните концентрации на 25(ОН)D под 12 ng/ml се асоциират с **увеличен паратхормон и алкална фосфатаза** [231]. Те установяват, че децата със субклиничен дефицит на витамин Д нормализират високите нива на паратхормона в рамките на 1 месец при прием на ергокалциферол D₃ в доза 1000 IU/дн. Децата от проучването, приемали по-ниски дози витамин Д 500 IU/дн. запазват високите нива на паратхормон, което говори за недостатъчна субституция. Посоченото проучване е проведено при родени на термин деца, докато нашето проучване обхваща деца под 32 г.с., които са застрашени допълнително от развитие на остеопения.

Сходно проучване в Индия обхванало 220 LBW деца установява 87,3% витамин Д дефицит, като проследявайки децата до 12-14 седмици коригирана възраст, наблюдава се увеличение на РТН при 63,6% от недоносените, като при 13,4% има клинични белези за рахит [12].

Проспективно проучване публикувано в Journal of pediatric gastroenterology and nutrition през 2014 год., проведено в Индия при 111 деца родени между 25-32 г.с. се проследяват нивата на серумни Са, Р, АР и 25(ОН)D от пъпна връв и на 6 седмица, при дневен прием от 400 IU

Д₃. Резултатите показват, че нива на витамин Д <20 ng/ml при раждане има при 12,6% от децата, като дефицита се увеличава на 52,2% на 6 седмица. Дозата от 400 IU Д₃ се оказва недостатъчна да превенция на витамин Д дефицит, тъй като нуждите на предтерминно родените деца са по-големи [205].

БПД

Нашето проучване не установява връзка между ниските нива на витамин Д при раждане и тежестта на БПД.

Честотното разпределение на децата показва, че **65,6% не развиват БПД**. При останалите **леката и средно тежката** форми се срещат еднакво често **-14,8%**. Тежката форма се среща при **4,8%** от децата (**табл. 26**). Анализът между групите на БПД по отношение на нивото на витамин Д от пъпна връв показва, че няма статистически значима разлика (тест на Крускал-Уолис $P=0,714$). Ние не установяваме корелация между нивото на витамин Д при раждане и последващо развитие на БПД.

През последните година има малък брой проучвания, в които се описва подобна връзка. Проучване проведено в Истанбул 2012-2013 год., обхванало 100 деца родени преди 32 г.с. установява, че 31 % от децата са с БПД като при всички тях средното ниво е под 10 ng/ml. Средните нива на витамин Д при децата с БПД и при техните майки са по-ниски спрямо групата деца без БПД. Продължителността на апаратна вентилация и кислородозависимост са също по-дълги при деца с БПД [47]. Друго проучване от Турция публикувано през 2014 год. установява връзка между генният полиморфизъм на VDR и честотата на БПД. От изследвани 109 деца 47 са с БПД, като при установяването на VDR Fox1 полиморфизъм честотата на БПД се увеличава независимо от други факторите (сърфактант терапия, апаратна вентилация) [113].

Ретроспективно корейско проучване при 55 ELBW открива връзка между развитието на рахит и БПД. Авторите установяват, че при ELBW, честотата на рахит остава висока и съчетана с трикратно повишен риск от умерена и тежка БПД [118].

В началото на **2015** година датски екип публикува метаанализ върху 16 проучвания относно влиянието на витамин Д върху плода и белодробното му съзряване. Анализът показва, че при животински и лабораторни модели са налице данни за положително влияние на витамин Д върху пролиферацията на фибробласти, сърфактант синтезата и алвеоларизацията. На базата на това те заключават, че хиповитаминоза Д е рисков фактор за респираторен дистрес синдром и развитие на БПД. [126].

Децата с БПД често получават дълготрайно лечение с метилксантини, бримковия диуретик-Фуросемид, системни курсове кортикостероиди, абнормен витамин Д внос. Изброените фактори са рискови за развитието на остеопения [65]. Известен е факта, че високите дози системни кортикостероиди водят до нарушен костен растеж [152]. Установена е инхибиция на функцията на остеобластите и ДНК синтезата [115].

Необходимо е всички деца с БПД да бъдат скринирани за биохимичните показатели на костния метаболизъм поради факта, че при тях риска за развитието на остеопения е по-голям. При децата с БПД от нашето проучване прилагаме кратки и стандартни курсове с Дексаметазон, ограничено приложение на фурантрил, замествайки го със спиронолактон. Спиринолактона не усилва уринарната екскреция на калций и фосфор като така от една страна ги запазва в организма, а от друга осигурява търсеният диуретичен ефект [197]. При персистираща кислородозависимост на 36 г.с. добавяме инхалаторен кортикостероид,

чрез което се редуцира системното приложение на Дексаметазон. Инхалаторните кортикостероиди са с добър клиничен ефект и се продължават в амбулаторни условия. Това води до намаляване на част от рисковите фактори за остеопения при лечението на децата с БПД.

Нормалните нива на витамин Д при раждането са необходими за осигуряване на нуждите от витамин Д през първия месец от живота. Това ще се осигури адекватен растеж и натрупване на костна маса. Нормалният витамин Д статус ще се предотврати вторичния хиперпаратиреоидизъм и хипофосфатемията, настъпващи около втория месец. Именно те са субклиничната изява на остеопенията.

В проследеният от нас контингент деца не се установяват клинични прояви на остеопения, т.е ние не регистрираме настъпила фрактура. Настъпилите биохимични промени в нивата на витамин Д, Ca^{++} , P, РТН и алкалната фосфатаза обаче са индиректни, субклинични прояви на хиповитаминоза Д, която би могла да еволюира в остеопения.

Остеопения на недоносените

Комплексните фактори на околната среда, хранене, хормоналният статус, хроничните заболявания и тяхното лечение засягат минерализацията на костите при предтерминно родените деца. Остеопенията е заболяване, характеризиращо се с нарушаване на минерализацията и костната плътност при недоносените деца. През последните години за обозначаване на това заболяване се използва и термина метаболитна костна болест на предтерминно родените деца [75, 151, 221].

През 2014 год. Американската академия по педиатрия (ААР) чрез анкетиране установява, че 6% от неонатолозите провеждат скриниране за остеопения сред недоносените деца [109]. Най-често заболяването се

проявява към 6-8 седмици след раждането. Най –висок риск има при деца с тегло под 1000 гр.и под 28 г.с. Честотата варира от 23% при VLBW до 55% при ELBW [75].

Биохимичните тестове за остеопения не са точно дефинирани. Тя се подозира при ниски серумни нива на фосфора <1,5 mmol/l, повишени нива на АР над 600 или над 800 U/L. Някои автори приемат стойности на АР над 500 U/L като рискови за остеопения [80, 90, 109], според други АР трябва да е над 750 U/L [115]. Серумните нива на калция могат да бъдат нормални, увеличени или ниски.

Някои автори са на мнение, че изследването само на АР и Р не е предиктивно за установяване на нарушенията в костната минерализация при недоносените [71].

Образни методи за диагностициране и проследяване на заболяването са рентгенографии на засегнатите кости (при настъпила вече спонтанна фрактура), ултразвуково изследване и DEXA. DEXA / dual energy X ray absorbtion/ е сензитивен метод за откриване на промени в костното минерална плътност и оценка на минерализацията при недоносените [15, 75, 160, 167]. Недостатък на изследването е използването на ренгенови лъчи и непреносимостта на уреда „ при леглото на болния”[39]. Друга използвана изобразителна техника е количествената ултразвукова оценка (QUS) за измерване на костната плътност и структурата на костите при деца застрашени от остеопения [17, 131, 165, 176]. Тази методика е лесна, неинвазивна, с референтни граници за кърмаческа възраст и възможност за използване „при леглото на болния” [39].

За нашата страна и двете неинвазивни методики **не са въведени в неонатологията.**

Една от задачите на нашето проучване е да установи кои от биохимичните маркери са най-предиктивни и широко достъпни за ранно откриване на остеопения.

Повечето автори разглеждат различна констелация на биохимичните маркери. През **2013** год. е публикувано ретроспективно 6 годишно проучване, проведено в САЩ при изследван РТН при 66 ELBW деца в 82% от тях има повишение на нивата му, при установена вече рентгенологично остеопения [143]. През **2014** год. Moreira A et al. публикуват ново проспективно проучване след 49 деца с тегло ≤ 1250 гр. според, което РТН е ранен и по-сензитивен маркер за диагностицирането на остеопения. Увеличаване на РТН > 180 mg /dl или понижаването на $P < 4.6$ mg/ dl на 3 седмична хронологична възраст дават 100% чувствителност и 94% специфичност за остеопения [144]. Други автори съобщават, че при деца с остеопения се увеличават AP и РТН при нормални калциево и фосфорни нива [124].

Нашето проучване също **показва завишени нива на РТН**, но на 8 седмична възраст. Тези повишени нива на РТН корелират с установените ниски нива на витамин Д **/фигура 16/**. Ние подкрепяме тезата, че РТН е високочувствителен маркер за идентифициране на деца в риск от остеопения. При установен вторичен хиперпаратиреоидизъм е необходимо да се изследва серумно ниво на 25(OH)D.

В цитираните по-горе проучвания не е изследвано серумно ниво на витамин Д, респективно не е отчетена корелацията между тези два взаимосвързани показателя. Редица други проучвания върху остеопения също не акцентуират върху изследване на серумните нива на витамин Д, което според нас е неизменно [17, 75, 124, 143]. Проучване публикувано 2013 год. относно посоченото заболяване от проследени 230 ELBW деца, при 24 са наблюдавани спонтанни фрактури авторите отчитат, че при тези деца вноса на Са, Р и витамин Д е бил по-нисък [221]. Smurthwaite D,

Wright NB, Russell S et al. съобщават за 5 деца с фрактури при проследени 72 ELBW за 5 годишен период [195].

Проучване в САЩ при 113 предтерминно родени деца установява, обратнопропорционална връзка между серумната алкална фосфатаза и фосфора. Увеличението на AP над 600U/l е много-често при недоносените, но авторите не откриват зависимост между нейните нива и рентгенографски белези за рахит при направените рентгенографии на китка и/или коляно. Според Mitchell et al. увеличението на AP над 800 U/l е показателно за остеопения [136].

Нивата на алкалната фосфатаза, при която се дефинира остеопения не са унифицирани и широко варират от 300 U/L (горна граница на нормата за новородени) до 900 U/L. Според Hung et al, нива на AP >700 U/L на 3 постнатална седмица е предиктивна за остеопения [103].

Backström MC et al. в проучване върху 43 предтерминно родени установяват при паралелно проследяване на костна плътност с DEXA, AP и серумният фосфор, че най-висока предиктивна стойност за остеопения са нива на AP над 900 U/l и серумен фосфор под 1,8 mmol/l. [23]. Измереният от тях костен изоензим на алкалната фосфатаза при децата не подобрява диагнозата.

През 2002 год. датски екип на базата на проучване на костната плътност с DEXA, серумна алкална фосфатаза и фосфор при 108 деца родени < 32 г.с. установяват, че рутинни измервания на серумна алкална фосфатаза и серумния фосфат не са от полза при прогнозирането на костната минерализация при недоносени деца [71].

В нашето проучване проследяваме промяната на **AP, P, PTH и витамин Д** при първоначално дефинираните групи деца. На каква възраст и колко от тях ще покажат стойности, на посочените показатели суспектни за остеопения? При децата от проучването не е провеждана рентгенова диагностика на кости, поради липса на спонтанни фрактури.

Ние проследяваме наднормените нива за алкална фосфатаза за следните два интервала - 500 U/l -800 U/l и AP над 800 U/L.

За серумният фосфор под 1,6 mmol/l, като нива под 1,1 mmol/l са белег за тежка хипофосфатемия.

Наднормените нива на паратхормона разглеждаме в следните два интервала над 65 pg/ml и над 100 pg/ml. Нива на витамин Д съответно на общоприетите – недостиг при нива 21- 29 ng/ml и дефицит -под 20 ng/ml.

Установяваме следната промена:

➤ В групата на деца с нормален витамин Д при раждане на навършена 8 седмица с повишена AP от 500-800 U/L са **2** деца (**10%**) от проследените. В групата деца с недостиг на витамин Д при раждане на 8 седмица има **2** деца с AP 500-800 и 1 дете с AP >800 **общо 8,10 %** от децата имат завишена AP. От групата на децата с дефицит на витамин Д на 8 седмица има **6** деца(**10,7%**) с AP от 500-800 U/L. От всички деца на 8 седмична възраст **9,65%** са с нива на AP **суспектни за остеопения.**

➤ На 8 седмици почти половината от децата или **47,5%** имат завишени нива на PTH. При установяване на PTH нива над 100 pg/ml да се проследят всички костни маркери и витамин Д, като се коригира дозата му своевременно.

➤ От анализа се установява, че в трите групи деца има тенденция към покачване на серумният фосфор за периода 4-8 седмица. При III гр. се наблюдават с най-голям брой **26** деца (**44,8%**) с поднормени нива на фосфора на 4 седмица, като по-голяма част от тях го нормализират на 8 седмица.

На осма седмица 15 деца (**13%**) от трите групи деца остават с нива на P под 1,6 mmol/l, но над 1,1 mmol/l. Само 4 деца / **3,4%**/ на двумесечна възраст имат изразен фосфорен дефицит - P под 1,1 mmol/l .

Децата в нашето проучване получават калций и фосфор само като част от състава на парентералното хранене средно до 16 постнатален ден и съответно ентералното хранене. Децата не получават допълнително перорално калциеви или фосфорни препарати. Единствената суплементация е с витамин Д₃. При голяма част от тях на осмата седмица биохимични маркерите суспектни за остепения вече са в референтни граници.

В групата на деца с дефицит на витамин Д при раждането има най-много деца с повишени стойности на АР, РТН и понижение на Р за периода 4-8 седмица. В края на проучването при **5 от нашите деца** се наблюдава асоциацията между **повишена АР над 500 U/l, повишен РТН - двукратно над горна граница на нормата (130 pg/ml) и дефицит на витамин Д <20 ng/ml**. Серумният фосфор е в норма, само при едно дете - той е нисък - 1,15 mmol/l. Всички тези деца са родени от майки с дефицит и недостиг на витамин Д (17,62 ng/ml ±7,69). Стойностите на витамин Д от пъпна връв също са дефицитни (19,92 ng/ml ±7,70). Въпреки получаваната от тях по-висока доза от 1334 IU/дн. на Д₃ на 8 седмица нивата им не се повишават -25(OH)D средно 14,06 ng/ml ±4,11. Затова ние смятаме, че най-голям ефект върху динамиката в биохимичните маркери за остепения е оказал именно витамин Д.

В заключение се приема, че по-високи дози на Д₃ при недоносените деца в проучването са намалили риска от повишаване на АР и РТН (корелационни зависимости показани на **фигури 16 и 17**), понижаването на фосфора.

Промените в костния метаболизъм не бива да се интерпретират без данни за витамин Д, който е един от главните регулатори на костната обмяната. Първите постнатални седмици са изключително важни при установен дефицит от раждането, когато той може да бъде наваксан.

Ранната корекция би могла да предотврати настъпването на вторичен хиперпаратиреоидизъм и развитието на остеопения.

Нашето проучване установява, че голяма част от проследените деца не показват промени в биохимичните серумни маркери, които да са предиктивни за остеопения. По-високият внос на витамин Д, органичаване системното приложение на кортикостероиди, и относително не дългият период на тотално парентерално хранене са част от стратегиите за профилактика на остеопенията. Мониторирането на серумни АР, Р, РТН и витамин Д по време на болничният престой ще доведе до по-ранна диагностика на остеопения на недоносеното дете. Ранният внос на минерални добавки с висока бионаличност, корекция на витамин Д дефицита и скринирането на костните биохимични маркери трябва да станат рутинни в проследяването на недоносените и за превенция им от остеопения.

VII. ИЗВОДИ

1. Установен е дефицит на витамин Д при **65,8%** от преждевременно родили жени в проучването (под 32г.с.) и при **50,4% от** техните деца. Потвърждава се сигнификантно позитивна корелация между майчини и детски витамин Д нива при раждането.
2. По-голяма част от **дефицита на витамин Д** е наблюдаван при жените с доказана **инфекция** като причина за раждането, на второ място- **пreekлампися**. Тези резултати насочват към изследване на витамин Д при рискова бременност след втория триместър и евентуално допълнителен внос като част от комплексната терапия при заплашващо предтерминно раждане.

3. Налице е **ясна сезонна зависимост** на 25(OH)D нива, както при майките така и при децата. Серумните нива на витамин Д сигнификантно намаляват през зимата и пролетта. Препоръчваме витамин Д профилактика през сезоните с намалено слънцегреене за всички бременни жени.
4. При децата с много ниско тегло на **двумесечна възраст** се установяват ниски нива. Витамин Д в доза **667 IU /дн. не осигурява** в адекватно субституиране на витамин Д. Ранният внос на витамин Д от **7-10 постнатален ден** при предтерминно родени деца, в доза **1334IU/дн. 1,25(OH)₂Д** ще е осигури нормални нива на двумесечна възраст.
5. Промените в нивата на **паратхормона, алкалната фосфатаза, фосфора и витамин Д** могат да служат за биохимична диагностика и определяне риска от **остеопения при недоносените** с много ниско тегло. Липсата на достатъчно на витамин Д води до вторичен хиперпаратиреоидизъм изразен чрез повишаване стойностите на паратхормона и алкалната фосфатаза и понижени нивата на фосфора.
6. Проследяването на децата по клинично-лабораторни показатели не показва статистически значими промени в отделните групи. Не се откри корелация между нивата на витамин Д при раждането и развитието на БПД.
7. Препоръчително е скринирането на нива на витамин Д при жените с усложнения на бременността, с цел субституирането им при недостиг. Превенцията на хиповитаминоза Д е от огромно значение за всички бременни жени, като тя се изразява в излагане на слънчева светлина, повишен внос на храни съдържащи витамин Д и оралната му суплементация.

8. Предлагаме алгоритъм за проследяване на витамин Д статуса и калциево-фосфорната обмяна при предтерминно родени деца с цел оптимизиране на постнаталният му внос и превенция на остеопения. Повишаване концентрациите на PTH и AP на двумесечна възраст могат да се използват за прогнозиране на дефицита на витамин Д.

Предложение за протокол относно скрининг и профилактика с витамин Д на жени с рискова бременност

Препоръчително изследване на серумно ниво на витамин Д при всички бременни във втори триместър.

При жени с установена рискова бременност изследването на витамин Д да бъде проведено при установяване на отклонения в протичането на бременността или при хоспитализацията на пациентката. Полученият резултат да се интерпретира според международно приетите норми за серумни нива на **25(OH)D** :

- Препоръчителни нормални нива **>30ng/ml**
 - Недостатъчност при нива **21-29ng/ml**
 - Дефицит при нива **<20 ng/ml**
- При нива на витамин Д **>30ng/ml норма**. Препоръчваме прием на мултивитаминен препарат съдържащ стандартно Д₃ 400 IU/табл., рационален хранителен режим, излагане на откритите части на тялото /лице и горни крайници/ поне 15-30 минути / дневно, избягване свръхупотреба на слънцезащитни кремове с висок UV фактор.
- При нива на **25(OH)D 21-29ng/ml – недостатъчност**. Препоръчваме поне Д₃ 600 IU/дневно, като редовен прием и 1500-2000 IU/дневно до достигане на нива **>30ng/ml**, хранителен режим богат на храни

съдържащи витамин Д, излагане на откритите части на тялото поне 15-30 мин/дневно, избягване свръхупотреба на слънцезащитни кремове с висок UV фактор.

- При нива на **25(OH)D <20 ng/ml** –дефицит препоръчване перорален прием на витамин Д₃ 1500-2000 IU/дневно за 6 седмици, излагане на слънце на откритите части поне 15-30 мин/дн, хранителен режим богат на храни съдържащи витамин Д.

Дневната безопасна доза за прием е 4000 IU съгласно препоръките на Българското дружество по ендокринология и Institute of Medicine of the National Academies [3,104].

Препоръчителни храни източници на витамин Д и калций са мляко, млечни произведения, риба /сьомга, скумрия, херинга/, рибено масло, яйца.

При установен недостиг и дефицит на витамин Д и проведено лечение да се изследва повторно серумното ниво на 25(OH) D след 6 до 8 седмици, като се прецизира по нататъшната суплементация съобразно контролните нива. Да се приложат данните от витамин Д статуса към медицинската документация за проследяване на бременността и бъде уведомен неонатолога за витамин Д статус на майката.

Препоръчителен е приема на Д₃ /холекалциферол/, защото той по-ефективно увеличава серумните витамин Д концентрации отколкото Д₂/ергокалциферол [19, 212].

Препоръчителен прием на витамин Д от 600 до 1000 IU/дневно за всички родилки до края на лактацията.

Посочените препоръки са съобразени с Препоръките за диагностика, профилактика и лечение на дефицит и недостатъчност на витамин Д изготвени от Българското дружество по ендокринология през 2013 год. и Institute of Medicine of the National Academies [3,104]

Предложение за алгоритъм за проследяване на витамин Д статуса и калциево-фосфорната обмяна при предтерминно родени деца рискови за остеопения (тегло под 1500 гр. и възраст ≤ 32 г.с)

I . Мониториране

1. Изследване ниво на витамин Д от пъпна връв.
2. Изследване Са /общ, йонизиран/, Р, АР и паратхормон на втора седмица.
3. Изследване на Р, АР , паратхормон и ниво на витамин Д на осма седмица.

II . Профилактика

1. Витамин Д₃

Прием на витамин Д от 7-10 ден след раждане.

Ниво $>30\text{ng/ml}$ – 2 gtt /1000 UI/дн/ D₃ перорално

Ниво $< 30\text{ng/ml}$ -3 gtt /1500 UI /дн/ D₃ перорално

На двумесечна възраст индивидуална корекция в дозата на базата на получения резултат на детето.

2. Ранно ентерално хранване – при възможност с фортифицирана кърма. При използване на фортифицирана кърма на майката да бъде препоръчан също дневен прием от 1000 UI на D₃.

3. Заместване на бримковия диуретик Furanthril с анти-калциуричния Spironolacton.

4. Ограничаване употребата на Dexamethazon (назначаване на кратки курсове за лечение на БПД), добавяне на инхалаторни кортико-стероидни препарати.

5. Кинезитерапия при клинично стабилни деца, обхващаща мускулатурата на горни и долни крайници за усилване на костната минерализация.

III . Диагноза на остеопенията

- При нива на P под 1,6 mmol/l - вероятна
- При нива на P под 1,1 mmol/l - сигурна
- Алкална фосфатаза над 800 U/l
- Паратхормон двукратно повишен над горна граница на нормата над 130 pg/ml
- 25(OH)D <20 ng/ml
- Ренгенография на кости при съмнение за фрактура
- Препоръчителна за оценка на костната плътност при AP над 800 U/l.

IV. Лечение на остеопения

При биохимична констелация за остеопения на 2 седмична възраст лечението започва при нива на фосфора под 1,5 mmol/l и Алкална фосфатаза над 800 U/l.

- Перорален прием на фосфор/разтвор на фосфат 0,8 mmol/ml/ - начална доза 3 mmol/kg/дн разделен на три приема. Дозата се преоценява съобразно следващите серумните нива на фосфора.
- Корекция на приема на вит. D₃ от 2 капки /1000 UI дневно/ на 3 капки/1500 UI дневно/ за периода от втората до осмата седмица, след което дозата се индивидуализира.
- Прием на калций перорално само при доказани ниски нива на йонизираната фракция.

При приема на перорални фосфорни и калциеви препарати да бъде в различни хранения поради опасност от преципитация при едновременен внос. При перорално субституиране с фосфор е нужно да се мониторира нивото му веднъж седмично.

Корекция на дозата на витамин D на 8 седмична възраст съобразно получените контролни резултати.

Имобилизация при фрактури с последваща кинезитерапия.

При липса на фрактури и след 8 седмица субституирането продължава до нормализиране на биохимичните и /или радиологични промени.

VIII. ПРИНОСИ

1. Проведено е първото в България проспективно клинично-епидемиологично проучване за витамин Д обмяната, обхващащо 129 деца родени \leq 32г.с.
2. Представени са за първи път в България данни относно нивата на витамин Д при предтерминно родили жени и техните новородени с ниско и екстремно ниско тегло.
3. Препоръчва се по-ранно начало на приема на витамин Д - 7-10 постнатален ден при недоносени деца под 32 г.с., в по- високи дози 1000-1500UI дн. и индивидуален подход за профилактика на рахита.
4. Разработен е модел за скриниране на показателите за костен метаболизъм при всички недоносени деца родени преди 32г.с. с тегло под 1500 гр. с цел предотвратяване на остеопения и адаптиране необходимата дозата на витамин Д.
5. Предлагаме мониториране на витамин Д при жени с рискова бременност и осигуряване на достъчен пренатален внос като част от комплексната терапия при усложнения на бременността.

XI. КНИГОПИС

1. Борисова А-М, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Тодоров Т, Свиначков Д, Касабова Л. Честота на дефицит, недостатъчност и достатъчност на Витамин Д в българската популация. *Ендокринология* 2012, 3, 3, 122-134
2. Борисова А-М, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Тодоров Т, Свиначков Д, Касабова Л. Определяне на оптималното ниво на 25(ОН)D в България. *Ендокринология* 2012, 3, 3, 135-142
3. Българско дружество по ендокринология, Препоръки за диагностика, профилактика и лечение на дефицит и недостатъчност на витамин Д, проф. Анна-Мария Борисова отг. редактор. 2013 стр.43-44
4. Вакрилова Л. Ранни критерии за оценка на риска и прогнозата при новородени деца с тегро под 1500 грама, Дисертационен труд, 2010, Медицински университет, СБАЛАГ „Майчин дом”, София
5. Кирилов Г. Дефицитът на витамин Д Актуален патогенетичен фактор при ендокринни заболявания *Medical magazine* 2015, 14, 2, 82-86
6. Мъсева А. Диагностициране на инфекцията като причина за предтерминното раждане и определяне степента на нейното развитие, Дисертационен труд, 2011, Медицински университет, СБАЛАГ „Майчин дом”, София
7. Пенева Л., И. Стоева Дефицит на витамин Д в детската възраст. *Педиатрия* 2007(37) suppl:29
8. Abedi P, Mohaghegh Z, Afshary P, Latifi M. The relationship of serum vitamin D with pre-eclampsia in the Iranian women. *Matern Child Nutr.* 2014pr;10(2):206-12.

9. Abrams St. A and the COMMITTEE ON NUTRITION. Calcium and vitamin d requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics*. 2013 May; 131(5): e1676-83.
10. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, january 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2002, 77, 67–75.
11. Adams JS, Liu PT, Chun R, Modlin RL, Hewison M. Vitamin D in defense of the human immune response. *Ann NY Acad Sci* 2007;1117: 94-105
12. Agarwal R, Virmani D, Jaipal ML, Gupta S, Gupta N, Sankar MJ, Bhatia S, Agarwal A, Devgan V, Deorari A, Paul VK Vitamin D status of low birth weight infants in Delhi: a comparative study. Investigators of LBW Micronutrient Study Group, Departments of Pediatrics and Endocrinology *J Trop Pediatr.* 2012 Dec;58(6):446-50.
13. Aghajafari F, Nagulesapillai T, Ronksley PE, Tough SC, O'Beirne M, Rabi DM. Association between maternal serum 25-hydroxyvitamin D level and pregnancy and neonatal outcomes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ.* 2013 Mar 26;346:f1169.
14. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, et al. ESPGHAN Committee on Nutrition. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010 Jan;50(1): 85-91.
15. Ahmad I, Nemet D, Eliakim A, Koeppel R, Grochow D, Coussens M, Gallitto S, Rich J, Pontello A, Leu SY, Cooper DM, Waffarn F.

Body composition and its components in preterm and term newborns: A cross-sectional, multimodal investigation. *Am J Hum Biol.* 2010 Jan-Feb;(1):69-75

16. Allgrove J, Shaw NJ. Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents Vol 16; fig 7., 26-27
17. Altuncu E, Akman I, Yurdakul Z, Ozdoğan T, Solakoğlu M, Selim N, Bilgen H, Ozek E, Bereket A. Quantitative ultrasound and biochemical parameters for the assessment of osteopenia in preterm infants. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007 May; 20(5):401-5.
18. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* January 2003 vol. 26 no. suppl 1 s103-s105
19. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2004, 89:5387–5391.
20. Arnold DL, Enquobahrie DA, Qiu C, Huang J, Grote N, VanderStoep A, Williams MA. Early Pregnancy Maternal Vitamin D Concentrations and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2015 May vol 29, Issue 3, p200-210
21. Aydogmus S, Kelekci S, Aydogmus H, Eriş S, Desdicioğlu R, Yilmaz B, Sağlam G. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women in a Turkish population and impact on perinatal outcomes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 Oct 10:1-5.
22. Backström MC, Kuusela AL, Maki R. Metabolic bone disease of prematurity *Ann Med*, 28 (4) (Aug 1996), pp. 275–282
23. Backström MC, Kouri T, Kuusela AL, Sievänen H, Koivisto AM, Ikonen RS, Mäki M. Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase and serum inorganic phosphate in metabolic bone disease of prematurity. *Acta Paediatr.* 2000 Jul;89(7):867-73.

24. Backström MC, Mäki R, Kuusela AL, Sievänen H, Koivisto AM, Ikonen RS, Kouri T, Mäki M. Randomised controlled trial of vitamin D supplementation on bone density and biochemical indices in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999 May;80(3):F161-6.
25. Baiz N, Dargent-Molina P, Wark JD, Souberbielle JC, Annesi-Maesano I; EDEN Mother-Child Cohort Study Group Cord serum 25-hydroxyvitamin D and risk of early childhood transient wheezing and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jan;133(1):147-53.
26. Baker AM, Haeri S, Camargo CA Jr, Espinola JA, Stuebe AM. A nested case-control study of midgestation vitamin D deficiency and risk of severe preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Nov; 95(11):5105-9.
27. Basile LA, Taylor SN, Wagner CL, Horst RL, Hollis BW. The effect of high-dose vitamin D supplementation on serum vitamin D levels and milk calcium concentration in lactating women and their infants. *Breastfeed Med.* 2006 Spring;1(1): 27-35
28. Bassir M, Laborie S, Lapillonne A, Claris O, Chappuis MC, Salle BL Vitamin D deficiency in Iranian mothers and their neonates: a pilot study. *Acta Paediatr.* 2001 May; 90(5):577-9.
29. Baumwell S, Karumanchi, S.A. Pre-eclampsia: Clinical manifestations and molecular mechanisms. *Nephron Clin. Pract.* 2007, 106, c72–c81
30. Bener A, Al-Hamaq AO, Saleh NM. Association between vitamin D insufficiency and adverse pregnancy outcome: global comparisons *Int J Womens Health.* 2013 Sep 4;5:523-31.

31. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94: 26-34.
32. Bodnar LM, Catov J, Zmuda JM, Coope ME, Parrott M, Roberts J, Marazita M, Simhan HN. Maternal Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentrations Are Associated with Small-for-Gestational Age Births in White Women *J. Nutr.* May 2010 vol. 140 no. 5 999-1006
33. Bodnar LM, Catov JM, Simhan NM, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92; 3517-22.
34. Bodnar LM, Klebanoff MA, Gernand AD, Platt RW, Parks WT, Catov JM, Simhan HN Maternal vitamin D status and spontaneous preterm birth by placental histology in the US Collaborative Perinatal Project. *Am J Epidemiol.* 2014 Jan 15;179(2):168-76.
35. Bodnar LM, Krohn MA, Simhan HN. Maternal vitamin D deficiency is associated with bacterial vaginosis in the first trimester of pregnancy. *J Nutr.* 2009 Jun;139(6):1157-1161.
36. Bodnar LM, Rouse DJ, Momirova V, Peaceman AM, Sciscione A, Spong CY, Varner MW et al. Maternal 25-hydroxyvitamin d and preterm birth in twin gestations *Obstet Gynecol.* 2013;122(1):91-8.
37. Bodnar LM, Simhan HN, Powers RW, Frank MP, Cooperstein E, Roberts JM. High prevalence of vitamin D insufficiency in black and white women residing in the Northern United States and their neonates. *Jornal of Nutrition* 2007;137:447-452.
38. Bowyer L, Catling-Paull C, Diamond T, Homer C, Davis G, Craig ME. Vitamin D, PTH and calcium levels in pregnant women and their neonates. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Mar;70(3):372-7.
39. Bozzetti V, Tagliabue P. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues *Italian Journal of Pediatrics* 2009, 35:20

40. Brembeck P, Winkvist A, Olausson H. Determinants of vitamin D status in pregnant fair-skinned women in Sweden. *Br J Nutr.* 2013 Sep 14;110(5):856-64.
41. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Camargo CA Jr, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Gillman MW Plasma 25-hydroxyvitamin D during pregnancy and small-for-gestational age in black and white infants *Ann Epidemiol.* 2012 Aug;22(8):581-6.
42. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Huh SY, Kleinman K, Litonjua AA, Oken E, Rich-Edwards JW, Camargo CA Jr, Gillman MW. Vitamin D status and hypertensive disorders in pregnancy. *Ann Epidemiol.* 2014 May;24(5):399-403.e1.
43. Burris HH, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Litonjua AA, Huh SY, Rich-Edwards JW, Camargo CA Jr, Gillman MW. Vitamin D deficiency in pregnancy and gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Sep;207(3):182.e1-8.
44. Burris HH, Van Marter LJ, McElrath TF, Tabatabai P, Litonjua AA, Weiss ST, Christou H. Vitamin D status among preterm and full-term infants at birth. *Pediatr Res.* 2014 Jan;75(1-1):75-80.
45. Camargo CA Jr, Ingham T, Wickens K, Thadhani R, Silvers KM, Epton MJ, Town GI, Pattermore PK, Espinola JA, Crane J; New Zealand Asthma and Allergy Cord-blood 25-hydroxyvitamin D levels and risk of respiratory infection, wheezing, and asthma. *Pediatrics.* 2011 Jan;127(1):e180-7.
46. Camargo CA Jr, Rifas-Shiman SL, Litonjua AA, Rich-Edwards JW, Weiss ST, Gold DR, Kleinman K, Gillman MW Maternal intake of vitamin D during pregnancy and risk of recurrent wheeze in children at 3 y of age. *Am J Clin Nutr* 2007;85:788-95

47. Cetinkaya M, Demirhan A, Buyukkale G, Cekmez F, Erener-Ercan T, Aydemir F G, Aydin N, Tunc T. Maternal/ neonatal Vitamin D Deficiency May Be A Risk Factor For Development Of Bronchopulmonary Dysplasia In Preterm Infants. *Arch Dis Child* 2014; 99:A187.
48. Charzewska J, Chlebna-Sokół D, Chybicka A, Czech-Kowalska J, Dobrzańska A, Helwich E, et al. Recommendations of prophylaxis of vitamin D deficiency in Poland (2009). *Med Wieku Rozwoj.* 2010 Apr-Jun;14(2):218-23.
49. Chawes BL, Bønnelykke K, Jensen PF, Schoos AM, Heickendorff L, Bisgaard H. Cord blood 25(OH)-vitamin D deficiency and childhood asthma, allergy and eczema: the COPSAC2000 birth cohort study. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Jan;133(1):147-53.
50. Chen YH, Fu L, Hao JH, Yu Z, Zhu P, Wang H, Xu YY, Zhang C, Tao FB, Xu X. Maternal vitamin D deficiency during pregnancy elevates the risks of small for gestational age and low birth weight infants in Chinese population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 May;100(5):1912-9
51. Chesney RW. Vitamin D: can an upper limit be defined? *J Nutr.* 1989 Dec;119(12 Suppl):1825-8.
52. Cho GJ, Hong S-C, Oh M-J, et al. Vitamin D deficiency in gestational diabetes mellitus and the role of the placenta. *Am J Obstet Gynecol* 2013;209:560.e1-8.
53. Committee Opinion No. 495. American College of Obstetrics and Gynecologists. Vitamin D: screen and supplementation during pregnancy. *Obstet Gynecol* 2011;118;197-8.

54. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M .Maternal infection and risk of preeclampsia: systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jan;198(1):7-22.
55. Cooke NE, Haddad JG. Vitamin D binding protein (Gcglobulin). *Endocr Rev* 1989;10:294–307.
56. Cooper NA, Moores R A review of the literature regarding nutritional supplements and their effect on vaginal flora and preterm birth.*Curr Opin Obstet Gynecol.* 2014 Dec;26(6):487-92.
57. Czech-Kowalska J, Latka-Grot J, Bulsiewicz D, et al. Impact of vitamin D supplementation during lactation on vitamin D status and body composition of mother-infant pairs: a MAVID randomized controlled trial. *PLoS One.* 2014 Sep 18;9(9):e107708.
58. Darby MM, Wallace K. Cornelius D, Chatman KT, Mosely JN, Martin JN, Purser CA, Baker RC, Owens MT, Lamarca BB. Vitamin D Supplementation Suppresses Hypoxia-Stimulated Placental Cytokine Secretion, Hypertension and CD4+ T Cell Stimulation in Response to Placental Ischemia. *Med J Obstet Gynecol.* 2013 Sep 23;1(2): 1012
59. Dawodu A, Tsang RC Maternal Vitamin D Status: Effect on Milk Vitamin D Content and Vitamin D Status of Breastfeeding Infants. *Adv Nutr* 2012. Vol 3:353-361
60. Deluca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites *Bonekey Reports* 3, 2014 Jan 8;3: 479
61. Delvin E, Arabian A. Kinetics and regulation of 25-hydroxycholecalciferol 1 α -hydroxylase from cells isolated from human term decidua. *Eur. J. Biochem.* (1987);163:659-662

62. De-Regil LM, Palacios C, Ansary A, Kulier R, Peña-Rosas JP. Vitamin D supplementation for women during pregnancy Cochrane Database of Systematic Reviews 2012, Feb 15:2 Art. No: CD008873.
63. Dijkstra SH, Van Beek A, Janssen J W, De Vleeschouwer LHM, Huysman WA, Van den Akker ELT. High prevalence of vitamin D deficiency in newborn infants of high-risk mothers Arch Dis Child 2007;92:750–753.
64. Dinlen N, Zenciroglu A, Beken S, Dursun A, Dilli D, Okumus N. Association of vitamin D deficiency with acute lower respiratory tract infections in newborns. J Matern Fetal Neonatal Med. 2015 Mar 19:1-5.
65. Dokos C, Tsakalidis C, Tragiannidis A, Rallis D Inside the "fragile" infant: pathophysiology, molecular background, risk factors and investigation of neonatal osteopenia. Clin Cases Miner Bone Metab. 2013 May;10(2):86-90.
66. Du H, Daftary GS, Lalwani SI, Taylor HS. Direct regulation of HOXA10 by 1,25-(OH)₂D₃ in human myelomonocytic cells and human endometrial stromal cells. Mol Endocrinol. 2005 Sep;19(9):2222-33.
67. Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR, Jobe AH, Wright LL, Fanaroff AA, Wrage LA, Poole K. National Institutes of Child Health and Human Development Neonatal Research Network Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. Pediatrics. 2005 Dec;116(6):1353-60.
68. El Rifai NM, Abdel Moety GA, Gaafar HM, Hamed DA Vitamin D deficiency in Egyptian mothers and their neonates and possible related factors. J Matern Fetal Neonatal Med. 2014;27(10):1064-8.

69. Ertl R, Yu CK, Samaha R, Akolekar R, Nicolaides KH. Maternal serum vitamin D at 11-13 weeks in pregnancies delivering small for gestational age neonates. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(2):103-8.
70. Evans KN, Nguyen L, Chan J, Innes BA, Bulmer JN, Kilby MD, Hewison M. Effects of 25-Hydroxyvitamin D₃ and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on Cytokine Production by Human Decidual Cells *Biology of Reproduction* December 1, 2006 vol. 75 no. 6 816-822
71. Faerk J, Peitersen B, Petersen S, Michaelsen KF. Bone mineralisation in premature infants cannot be predicted from serum alkaline phosphatase or serum phosphate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002 Sep;87(2):F133-6.
72. Fanaroff AA, Martin J.K., Walsch C.M. *Neonatal-Perinatal Medicine; Diseases of the fetus and infant*, 8th edition, vol two, Rigo J, De Curtis M, Disorders of Calcium, Phosphorus and Magnesium Metabolism, vol two page 1500-1532
73. Fares S, Sethom MM, Khouaja-Mokrani C, Jabnoun S, Feki M, Kaabachi N. Vitamin A, E, and D deficiencies in tunisian very low birth weight neonates: prevalence and risk factors *Pediatr Neonatol.* 2014 Jun;55(3):196-201.
74. Fenton TR. A new infant growth chart for preterm babies: Babson and Benda's chart updated with recent data and a new format. *BMC Pediatr* 2003;3:13
75. Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants *J Pediatr.* 2014 Mar;164(3):499-504.

76. Fisher Lloyd, Gerald van Belle. *Biostatistics. A Methodology for the Health Sciences*. John Wiley & Sons, INC. New York. 1993, p991.
77. Gallo S, Comeau K, Vanstone C, Agellon S, Sharma A, Jones G, L'Abbé M, Khamessian A, Rodd C, Weiler H Effect of different dosages of oral vitamin D supplementation on vitamin D status in healthy, breastfed infants: a randomized trial. *JAMA*. 2013 May 1;309(17):1785-92.
78. Gernand AD, Bodnar LM, Klebanoff MA, Parks WT, Simhan HN Maternal serum 25-hydroxyvitamin D and placental vascular pathology in a multicenter US cohort. *Am J Clin Nutr*. 2013 Aug;98(2):383-8.
79. Gernand AD, Simhan HN, Caritis S, Bodnar LM Maternal vitamin D status and small-for-gestational-age offspring in women at high risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2014 Jan;123(1):40-8.
80. Glass EJ, Hume R, Hendry GM, Strange RC, Forfar JO Plasma alkaline phosphatase activity in rickets of prematurity *Archives of Disease in Childhood*, 1982, 57, 373-376
81. Godel J.C, Vitamin D supplementation: Recommendations for Canadian mothers and infants *Paediatr Child Health*. 2007 Sep;12(7):583-98
82. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R Epidemiology and causes of preterm birth.*Lancet*. 2008 Jan 5;371(9606):75-84.
83. Gombard AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide(CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is a strogly up-regulated in myeloidcells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *FASEB J* 2005;19:1067-77.

84. Grant WB. 2011. Adequate vitamin D during pregnancy reduces the risk of premature birth by reducing placental colonization by bacterial vaginosis species. *mBio* 2011 Mar 29;22(2):e00022-11(2)
85. Guideline: Vitamin D supplementation in pregnant women. World Health Organization 2012
86. Halhali A, Acker GM, Garabédian M. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces in vivo the decidualization of rat endometrial cells. *J Reprod Fertil* 1991;91:59–64.
87. Halhali A, Díaz L, Barrera D, Avila E, Larrea F. Placental calcitriol synthesis and IGF-I levels in normal and preeclamptic pregnancies. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Oct;144 Pt A:44-9.
88. Halioglu O, Aksit S, Koc F, et al. Vitamin D deficiency in pregnant women and their neonates in spring time in western Turkey *Paed. and Perinat. Epi*, 2012 Jan;26(1):53-60
89. Halm BM, Lai JF, Pagano I, Cooney W, Soon RA, Franke AA. Vitamin D deficiency in cord plasma from multiethnic subjects living in the tropics. *J Am Coll Nutr*. 2013;32(4):215-23
90. Harrison CM, Johnson K, McKechnie E. Osteopenia of prematurity: a national survey and review of practice. *Acta Paediatr*. 2008Apr;97(4):407-13
91. Haugen M, Brantsaeter AL, Trogstad L, Alexander J, Roth C, Magnus P, Meltzer HM. Vitamin D supplementation and reduced risk of preeclampsia in nulliparous women. *Epidemiology*. 2009 Sep;20(5):720-6.
92. Henry HL, Bouillon R, Norman AW, Gallagher JC, Lips P, Heaney RP, et al. 14th Vitamin D Workshop consensus on vitamin D nutritional guidelines. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2012;121:4-6.

93. Hensel KJ, Randis TM, Gelber SE, Ratner AJ. Pregnancy-specific association of vitamin D deficiency and bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Jan;204(1):41.e1-9.
94. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911-1930
95. Holick MF. Vitamin D deficiency. *NEgl J Med* 2007;357:266-81.
96. Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation and clinical application. *Ann Epidemiol.* 2009;19(2):73-78.
97. Hollick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency :a worldwide problem with health consequences. *American jornal of clinical nutrition* 2008;87(Suppl.):1080-1086
98. Hollis BW, Johnson D, Hulsey ThC, Ebeling M, Wagner CL. Vitamin D Supplementation During Pregnancy: Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Safety and Effectiveness *Journal of Bone and Mineral Research* 2011:2341-2357
99. Hollis BW, Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr* 2005;135:317-22.
100. Holmlund-Suila E, Viljakainen H, Hytinantti T, Lamberg-Allardt C, Andersson S, Mäkitie O. High-dose vitamin d intervention in infants--effects on vitamin d status, calcium homeostasis, and bone strength. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Nov;97(11):4139-47.
101. Horbar JD, Badger GJ, Carpenter JH, Fanaroff AA, Kilpatrick S, LaCorte M, Phibbs R, Soll RF; Members of the Vermont Oxford

- Network Trends in mortality and morbidity for very low birth weight infants, 1991-1999 *Pediatrics*. 2002 Jul;110(1 Pt 1):143-51.
102. Hosmer DW, Lemeshow S, *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1989, 307 p.
 103. Hung YL, Chen PC, Jeng SF, Hsieh CJ, Peng SS, Yen RF, Chou HC, Chen CY, Tsao PN, Hsieh WS Serial measurements of serum alkaline phosphatase for early prediction of osteopaenia in preterm infants. *J Paediatr Child Health*. 2011 Mar;47(3):134-9.
 104. Institute of Medicine of the National Academies Food and Board. Dietary Reference Intake for Calcium and Vitamin D. (2011) The National Academies Press, Washington , D.C.
 105. Jacquemyn Y, Ajaji M, Karepouan N. Vitamin D levels in maternal serum and umbilical cord blood in a multi-ethnic population in Antwerp, Belgium. *Facts Views Vis Obgyn*. 2013;5(1):3-5
 106. Javaid MK, Crozier SR, Harvey NC, Gale CR, Dennison EM, Boucher BJ, Arden NK, Godfrey KM, Cooper C. Princess Anne Hospital Study Group. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood bone mass at age 9 years: a longitudinal study. *Lancet*. 2006 Jan 7;367(9504):36-43.
 107. Joong Sh, Mee Y, Longtine M, Nelson M. Vitamin D Effects on Pregnancy and placenta. *Placenta*. 2010 December; 31(12):1027-1034.
 108. Karras SN, Anagnostis P, Annweiler C, Naughton D.P, Petroczi A, Bili, E, Harizopoulou V et al. Maternal vitamin D status during pregnancy: The mediterranean reality. *Eur. J. Clin. Nutr*. 2014, 68, 864–869.

109. Kelly A, Kovatch KJ, Garber SJ. Metabolic bone disease screening practices among U.S. neonatologists. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014 Oct;53(11):1077-83.
110. Kemp MW. Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation. *Front Immunol*. 2014 Dec 1;5:574.
111. Kinnear P, Colin Gray. *SPSS for Windows Made Simple*. Psychology Press, East Sussex, UK, 1997, p386.
112. Kinney DK, Teixeira P, Hsu D, Napoleon SC, Crowley DJ, Miller A, et al. Relation of schizophrenia prevalence to latitude, climate, fish consumption, infant mortality, and skin color: a role for prenatal vitamin d deficiency and infections? *Schizophr Bull* 2009;35:582–95.
113. Koroglu OA, Onay H, Cakmak B, Bilgin B, Yalaz M, Tunc S, Ozkinay F, Kultursay N. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Research* 2014Aug;76(2):171-6
114. Kovacs CS, Bone development and mineral homeostasis in the fetus and neonate: roles of the calciotropic and phosphotropic hormones. *Physiol Rev*. 2014 Oct;94(4):1143-218.
115. Lam HS, So KW, Ng PC Osteopenia in Neonates: A Review *HK J Paediatr* 2007;12:118-124
116. Lechtermann C, Hauffa BP, Herrmann R, Schündeln MM, Gellhaus A, Schmidt M, Grasemann C. Maternal vitamin D status in preeclampsia: seasonal changes are not influenced by placental gene expression of vitamin D metabolizing enzymes. *PLoS One*. 2014 Aug 22;9(8):e105558.

117. Lee JM, Smith JR, Philipp BL, Chen TC, Mathieu J, Holick MF. Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Pediatr (Phila)*. 2007 Jan;46(1):42-4.
118. Lee SM, Namgung R, Park MS, Eun HS, Park KI, Lee C. High incidence of rickets in extremely low birth weight infants with severe parenteral nutrition-associated cholestasis and bronchopulmonary dysplasia. *Korean Med Sci*. 2012 Dec;27(12):1552-5.
119. Leffelaar ER, Vrijkotte TG, van Eijsden M. Maternal early pregnancy vitamin D status in relation to fetal and neonatal growth: results of the multi-ethnic Amsterdam Born Children and their Development cohort. *Br J Nutr*. 2010 Jul;104(1):108-17.
120. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaidler A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Jul;189(1):139-47.
121. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review. *European Journal of Endocrinology* (2012) 166 765–778
122. Liu N, Kaplan AT, Low J, Nguyen L, Liu GY, Equils O, et al. Vitamin D induces innate antibacterial responses in human trophoblasts via an intracrine pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:3517-22.
123. Liu NQ, Kaplan AT, Lagishetty V, et al. Vitamin D and the regulation of placental inflammation. *J Immunol* 2011;186(10):5968-5974.
124. Lothe A, Sinn J, Stone M. Metabolic bone disease of prematurity and secondary hyperparathyroidism. *J Paediatr Child Health*. 2011 Aug;47(8):550-3.

125. Łuczyńska A, Logan C, Nieters A, Elgizouli M, Schöttker B, Brenner H, Rothenbacher D Cord blood 25(OH)D levels and the subsequent risk of lower respiratory tract infections in early childhood: the Ulm birth cohort. *Eur J Epidemiol.* 2014 Aug;29(8):585-94.
126. Lykkedegn S, Sorensen GL, Beck-Nielsen SS, Christesen HT. The impact of vitamin D on fetal and neonatal lung maturation. A systematic review. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2015 Apr 1;308(7):L587-L602
127. Maghbooli Z, Hossein-Nezhad A, Karimi F, Shafaei AR, Larijani B. Correlation between vitamin D3 deficiency and insulin resistance in pregnancy. *Diabetes metab Res Rev* 2008; 24: 27-32
128. Mahon P, Harvey N, Crozier S, Inskip H, et al. Low maternal vitamin D status and fetal bone development; cohort study. *J Bone min Res* 2010;25;14-19
129. Mannion CA, Gray-Donald K, Koski KG. Association of low intake of milk and vitamin D during pregnancy with decreased birth weight. *CMAJ.* 2006 Apr 25;174(9):1273-7.
130. McCarthy RA, McKenna MJ, et al. Vitamin D nutritional status in preterm infants and response to supplementation. *Br J Nutr.* 2013 Jul 14;110(1):156-63.
131. McDevitt H, Tomlinson C, White MP, Ahmed SF. Changes in quantitative ultrasound in infants born at less than 32 weeks' gestation over the first 2 years of life: influence of clinical and biochemical changes. *Calcif Tissue Int.* 2007 Oct;81(4):263-9.
132. McKillup. *Statistics Explained. An Introductory Guide for Life Scientists.* Cambridge University Press 2005.

133. Merewood A, Mehta SD, Chen TC, Bauchner H, Holick MF. Association between severe vitamin D deficiency and primary caesarean section. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:940–945.
134. Merewood A, Mehta SD, Grossman X, Chen TC, Mathieu JS, Holick MF, Bauchner H. Widespread vitamin D deficiency in urban Massachusetts newborns and their mothers. *Pediatrics*. 2010 Apr;125(4):640-7.
135. Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M. Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society: Vitamin D deficiency in children and Its management: Review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics* 2008;122:398-399-400.
136. Mitchell SM, Rogers SP, Hicks PD, Hawthorne KM, Parker BR, Abrams SA. High frequencies of elevated alkaline phosphatase activity and rickets exist in extremely low birth weight infants despite current nutritional support *BMC Pediatr*. 2009 Jul 29;9:47.
137. Mithal A, Kalra S. Vitamin D supplementation in pregnancy. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014 Sep;18(5):593-6.
138. Mizwicki MT, Norman AW. The vitamin D sterol vitamin D receptor ensemble model offers unique insights into both genomic and rapid-response signaling. *Sci Signal* 2009;2: re4.
139. Mohaghegh Z, Abedi P, Dilgouni T, Namvar F, Ruzafza S. The Relation of Preeclampsia and Serum Level of 25-Hydroxyvitamin D in Mothers and Their Neonates: A Case Control Study in Iran *Horm Metab Res* 2015; 47(04): 284-288
140. Mohamed WA, Al-Shehri MA. Cord blood 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of acute lower respiratory tract infection in early childhood. *J Trop Pediatr*. 2013 Feb;59(1):29-35.

141. Monangi N, Slaughter JL, Dawodu A, Smith C, Akinbi HT. Vitamin D status of early preterm infants and the effects of vitamin D intake during hospital stay Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2014;99:F166-F168.
142. Morales E, Romieu I, Guerra S, et al INMA Project. Maternal vitamin D status in pregnancy and risk of lower respiratory tract infections, wheezing, and asthma in offspring. Epidemiology. 2012 Jan;23(1):64-71.
143. Moreira A, February M, Geary C. Parathyroid hormone levels in neonates with suspected osteopenia. J Paediatr Child Health. 2013 Jan;49(1):E12-6.
144. Moreira A, Swischuk L, Malloy M, Mudd D, Blanco C, Geary C. Parathyroid hormone as a marker for metabolic bone disease of prematurity J Perinatol. 2014 Oct;34(10):787-91.
145. Morley R, Carlin JB, Pasco JA, Wark JD Maternal 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations and offspring birth size. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Mar;91(3):906-12.
146. Munns C, Zacharin MR, Rodda CP, et al. Prevention and treatment of infant and childhood vitamin D deficiency in Australia and New Zealand: a consensus statement. Paediatric Endocrine Group; Paediatric Bone Australasia. Med J Aust. 2006 Sep 4;185(5):268-72
147. Natarajan CK, Sankar MJ, Agarwal R, Pratap OT, Jain V, Gupta N, Gupta AK, Deorari AK, Paul VK, Sreenivas V. Trial of daily vitamin D supplementation in preterm infants Pediatrics. 2014 Mar;133 (3):e628-34.

148. National Research Council, Food and Nutrition Board. Recommended dietary allowances 10th ed. Washington, DC: National Academy Press, 1989:92-97.
149. Navarrete V, Puppala B, Weedon K, Donovan R, Schweig L, Wagner C, 25-Hydroxy Vitamin D Level and Immune Function in Preterm Infants
<http://www.advocatehealth.com/clinicalresearch/2013researchposter17>
150. Nehama H, Wientroub S, Eisenberg Z, Birger A, Milbauer B, Weisman Y. Seasonal variation in paired maternal-newborn serum 25-hydroxyvitamin D and 24,25-dihydroxyvitamin D concentrations in Israel. *Isr J Med Sci.* 1987 Apr;23(4):274-7.
151. Nehra D, Carlson SJ, Fallon EM, Kalish B, Potemkin AK, Gura KM, et al. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. A.S.P.E.N. clinical guidelines: nutrition support of neonatal patients at risk for metabolic bone disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2013 Sep;37(5):570-98.
152. Ng PC, Lam CW, Wong GW, et al. Changes in markers of bone metabolism during dexamethasone treatment for chronic lung disease in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;86:F49-54.
153. Nikolaidou P, Hatzistamatiou Z, Papadopoulou A, Kaleyias J, Floropoulou E, Lagona E, et al. Low vitamin D status in mother-newborn pairs in Greece. *Calcified tissue International* 2006;78:337-342
154. O'Brien KO, Li S, Cao C, Kent T, Young BV, Queenan RA, Pressman EK, Cooper EM Placental CYP27B1 and CYP24A1 expression in human placental tissue and their association with

- maternal and neonatal calcitropic hormones. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Apr; 99(4):1348-56.
155. Olmos-Ortiz A, Avila E, Durand-Carbajal M, Díaz L. Regulation of Calcitriol Biosynthesis and Activity: Focus on Gestational Vitamin D Deficiency and Adverse Pregnancy Outcomes. *Nutrients.* 2015 Jan 9;7(1):443-480.
 156. O'Riordan MN, Kiely M, Higgins JR, Cashman KD. Prevalence of suboptimal vitamin D status during pregnancy *Ir Med J.* 2008 Sep;101(8):240, 242-3.
 157. Parlak M, Kalay S, Kalay Z, Kirecci A, Guney O, Koklu E. Severe vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in Turkey. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 May 30: 1-4.
 158. Pehlivan I, Hatun S, Aydogan M, Babaoglu K, Gokalp AS. Maternal vitamin D deficiency and vitamin D supplementation in healthy infants. *Turk J Pediatr.* 2003; 45: 315–20.
 159. Piccinni MP, Scaletti C, Maggi E, Romagnani S. Role of hormone-controlled Th1-and Th2-type cytokines in successful pregnancy. *J Neuroimmunol* 2000; 109: 30-3
 160. Pieltain C, de Halleux V, Senterre T, Rigo J. Prematurity and bone health. *World Rev Nutr Diet.* 2013; 106:181-8.
 161. Pike WJ, Meyer MB, The Vitamin D Receptor: New Paradigms for the Regulation of Gene Expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2010 Jun; 39(2): 255–269.
 162. Poel YH, Hummel P, Lips P, Stam F, van der Ploeg T, Simsek S. Vitamin D and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med.* 2012 Jul; 23(5): 465-9.

163. Popowski T, Goffinet F, Batteux F, Maillard F, Kayem G. Prediction of maternofetal infection in preterm premature rupture of membranes: serum maternal markers. *Gynecol Obstet Fertil*. 2011 May; 39(5): 302-8.
164. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and immune function. *Nutrients*. 2013 Jul 5; 5(7): 2502-21.
165. Rack B, Lochmüller EM, Janni W, Lipowsky G, Engelsberger I, Friese K, Küster H. Ultrasound for the assessment of bone quality in preterm and term infants. *J Perinatol*. 2012 Mar; 32(3): 218-26.
166. Reinken L, Obladen M, Dockx-Reinken F, Lindemann C. The effect of osteopenia prevention in very small premature infants on hormonal parameters of calcium metabolism and bone mineralization *Klin Padiatr*. 1989 May-Jun; 201(3): 77-82.
167. Rigo J, Nyamugabo K, Picaud JC, Gerard P, Pieltain C, De Curtis M. Reference values of body composition obtained by dual energy X-ray absorptiometry in preterm and term neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1998 Aug; 27(2): 184-90.
168. Rigo J, Pieltain C, Salle B, Senterre J. Enteral calcium, phosphate and vitamin D requirements and bone mineralization in preterm infants. *Acta Paediatr*. 2007 Jul;96(7): 969-74.
169. Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2011 Jun; 204(6):556.e1-4.
170. Rodda CP, Benson JE, Vincent AJ, Whitehead CL, Polyakov A, Vollenhoven B. Maternal Vitamin D Supplementation During Pregnancy Prevents Vitamin D Deficiency in the Newborn: An Open Label Randomised Controlled Trial. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 Mar 2.

171. Rodriguez A, García-Esteban R, Basterretxea M, Lertxundi A, Rodríguez-Bernal C, Iñiguez C, Rodríguez-Dehli C, Tardón A, Espada M, Sunyer J, Morales E. Associations of maternal circulating 25-hydroxyvitamin D3 concentration with pregnancy and birth outcomes BJOG. 2014 Sep 11.
172. Rong Ma, Yang Gu, Shuang Zhao, Jingxia Sun, Lynn J. Groome , Yuping Wang Expressions of vitamin D metabolic components VDBP, CYP2R1, CYP27B1, CYP24A1, and VDR in placentas from normal and preeclamptic pregnancies American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism. Published 1 October 2012.Vol. 303no. 7, E928-E935
173. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, Murad MH, Kovacs CS.The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. Endocr Rev. 2012 Jun; 33(3): 456-92.
174. Ross AC, Manson JE, Abrams St.A, et al. The 2011 Report on Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D from the Institute of Medicine: What Clinicians Need to Know J Clin Endocrinol Metab. Jan 2011; 96(1): 53-58.
175. Rubin LP, Yeung B, Vouros P, Vilner LM, Reddy GS. Evidence for human placental synthesis of 24,25-dihydroxyvitamin D3 and 23,25-dihydroxyvitamin D3. Pediatr Res. 1993 Jul; 34(1): 98-104.
176. Rubinacci A, Moro GE, Boehm G, De Terlizzi F, Moro GL, Cadossi R. Quantitative ultrasound for the assessment of osteopenia in preterm infants European Journal of Endocrinology (2003) 149 307–315

177. Rustico StE, Calabria AC, Garber SJ. Metabolic bone disease of prematurity. *Journal of Clinical&Translational Endocrinology* Volume 1, Issue 3, September 2014, Pages 85–91
178. Rustveld LO, Kelsey SF, Sharma R. Association between maternal infections and preeclampsia: a systematic review of epidemiologic studies. *Matern Child Health J.* 2008 Mar; 12(2): 223- 42.
179. Sachan A, Gupta R, Das V, Agarwal A, Awasthi PK, Bhatia V. High prevalence of vitamin D deficiency among pregnant women and their newborns in northern India. *Am J Clin Nutr.* 2005 May; 81(5): 1060-4.
180. Salle BL, Delvin EE, Lapillonne A, Bishop NJ, Glorieux FH. Perinatal metabolism of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1317S–24S.
181. Sayers A, Tobias JH. Estimated maternal ultraviolet B exposure levels in pregnancy influence skeletal development of the child. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 765–71.
182. Scholl TO, Chen X, Stein P. Maternal vitamin D status and delivery by cesarean. *Nutrients.* 2012 Apr;4(4):319-30.
183. Scholl TO, Chen X, Stein TP. Vitamin D, secondary hyperparathyroidism, and preeclampsia. *Am J Clin Nutr.* 2013 Sep;98(3):787-93.
184. Screening for and Treatment of Vitamin D Deficiency in Pregnancy /Clinical Guidelines Section B: Obstetrics and Midwifery Guidelines Australia Date Revised: April 2011
185. Seely EW, Brown EM, DeMaggio DM, Weldon DK, Graves SW. A prospective study of calciotropic hormones in pregnancy and post partum: reciprocal changes in serum intact parathyroid hormone

- and 1,25-dihydroxyvitamin D. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Jan;176(1 Pt 1): 214-7.
186. Senti J, Thiele DK, Anderson CM. Maternal vitamin D status as a critical determinant in gestational diabetes. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2012 May-Jun;41(3):328-38.
187. Shand AW, Nassar N, Von Dadelszen P, Innis SM, Green TJ BJOG. Maternal vitamin D status in pregnancy and adverse pregnancy outcomes in a group at high risk for pre-eclampsia. *BJOG.* 2010 Dec;117(13):1593-8.
188. Shibata M, Suzuki A, Sekiya T, Sekiguchi S, Asano S, Udagawa Y, Itoh M. High prevalence of hypovitaminosis D in pregnant Japanese women with threatened premature delivery. *J Bone Miner Metab.* 2011 Sep; 29(5): 615-20.
189. Shin JS, Choi MY, Longtine MS, Nelson DM. Vitamin D Effects on Pregnancy and Placenta. *Placenta.* 2010 December; 31(12):1027-1034.
190. Shin YH, Yu J, Kim KW, Ahn K, Hong SA, Lee E, Yang SI, Jung YH et al. Association between cord blood 25-hydroxyvitamin D concentrations and respiratory tract infections in the first 6 months of age in a Korean population: a birth cohort study (COCOA). *Korean J Pediatr.* 2013 Oct;56(10):439-45.
191. Singla R, Gurung P, Aggarwal N, Dutta U, Kochhar R. Relationship between preeclampsia and vitamin D deficiency: a case control study. *Arch Gynecol Obstet.* 2015 Jun;291(6):1247-51.
192. Skowrońska-Józwiak E, Adamczewski Z, Tyszkiewicz A, Krawczyk-Rusiecka K, Lewandowski K, Lewiński A. Assessment of adequacy of vitamin D supplementation during pregnancy. *Ann Agric Environ Med.* 2014; 21(1): 198-200

193. Skowronska-Jozwiak E, Lebiedzinska K, Smyczynska J, Lewandowski KC, Glowacka E, Lewinski A. Effects of maternal vitamin D status on pregnancy outcomes, health of pregnant women and their offspring. *Neuro Endocrinol Lett.* 2014 Sep 9; 35(5): 367-372.
194. Sloka S, Stokes J, Randell E, Newhook LA. Seasonal variation of maternal serum vitamin D in Newfoundland and Labrador. *J Obstet Gynaecol Can.* 2009 Apr;31(4):313-21.
195. Smurthwaite D, Wright NB, Russell S, Emmerson AJ, Mughal MZ How common are rib fractures in extremely low birth weight preterm infants? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2009 Mar; 94(2): F138-9.
196. Song SJ, Zhou L, Si S, Liu J, Zhou J, Feng K, Wu J, Zhang W. The high prevalence of vitamin D deficiency and its related maternal factors in pregnant women in Beijing. 2013 Dec 26;8(12):e85081.
197. Sonntag J, Gaude M. Effect of dexamethasone and spironolactone therapy in calcium and phosphate homeostasis in premature infants with a birth weight under 1,500 g. *Klin Padiatr.* 1998 Sep-Oct; 210(5): 354-7.
198. Standing committee on the Scientific Evaluation of Dietary Intakes for calcium phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. National Academy Press, Washington, DC, pp 250-287.
199. Stene LC, Ulriksen J, Magnus P, Joner G. Use of cod liver oil during pregnancy associated with lower risk of Type I diabetes in the offspring. *Diabetologia* 2000;43:1093–8.
200. Stoelhorst GM, Rijken M, Martens SE, Brand R, den Ouden AL, Wit JM, Veen S. Leiden Follow-Up Project on Prematurity. Changes in neonatology: comparison of two cohorts of very preterm infants (gestational age <32 weeks): the Project On Preterm

- and Small for Gestational Age Infants 1983 and the Leiden Follow-Up Project on Prematurity 1996-1997. *Pediatrics*. 2005 Feb; 115(2): 396-405
201. Tabesh M, Salehi-Abargouei A, Tabesh M, Esmailzadeh A. Maternal vitamin D status and risk of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Aug; 98(8): 3165-73.
 202. Tadeusch HW, Ballard R, Gleason Ch. Avery's disease of the newborn 8 edition, Martinez A, Simmons R, Abnormalities of Fetal Growth Chapter 5 page 32-36,
 203. Tadeusch HW, Ballard R, Gleason Ch. Avery's disease of the newborn 8 edition Lewis R, Disorders of Calcium, Phosphorus and Magnesium Metabolism Chapter 89 page 1347-1349
 204. Tamblyn JA, Hewison M, Wagner CL, Bulmer JN, Kilby MD Immunological role of vitamin D at the maternal-fetal interface. *J Endocrinol*. 2015 Mar; 224(3): R107-21.
 205. Tergestina M, Jose A, Sridhar S, Job V, Rebekah G, Kuruvilla KA, Thomas N. Vitamin D status and adequacy of standard supplementation in preterm neonates from South India *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014 May; 58(5): 661-5.
 206. Thorne-Lyman A, Fawzi WW. Vitamin D during pregnancy and maternal, neonatal and infant health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2012 Jul; 26 Suppl 1: 75-90.
 207. Thorp JM, Camargo CA, McGee PL, et al. Vitamin D status and recurrent preterm birth: a nested case-control study in high-risk women. *BJOG*. 2012 Dec; 119(13): 1617-23.

208. Thota C, Menon R, Fortunato SJ, Brou L, Lee JE, Al-Hendy A. 1,25-Dihydroxyvitamin D deficiency is associated with preterm birth in African American and Caucasian women *Reprod Sci.* 2014; 21(2): 244-50.
209. Thota C, Farmer T, Garfield RE, Menon R, Al-Hendy A. Vitamin D Elicits Anti-Inflammatory Response, Inhibits Contractile-Associated Proteins, and Modulates Toll-Like Receptors in Human Myometrial Cells *Published. Reproductive Sciences* April 2013 vol. 20 no. 4 463-475
210. Thureen PJ, Hay WW. Jr Neonatal nutrition and metabolism second edition 2006 Itani. O. R. Tsang Normal bone and mineral physiology and metabolism page 185-229.
211. Tinnion RJ, Embleton ND. How to use... alkaline phosphatase in neonatology. *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2012 Aug; 97(4): 157-63.
212. Tripovic L et al. Comparison of vitamin D2 and vitamin D3 supplementation in raising serum 25-hydroxyvitamin D status: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2012, 95: 1357–1364.
213. Ullah MI, Koch CA, Tamanna S, Rouf S, Shamsuddin L. Vitamin D deficiency and the risk of preeclampsia and eclampsia in Bangladesh *Horm Metab Res.* 2013 Sep; 45(9): 682-7.
214. Van der Laar R, Van der Ham DP, Oei SG, Willekes C, Weiner CP, Mol BW. Accuracy of C-reactive protein determination in predicting chorioamnionitis and neonatal infection in pregnant women with premature rupture of membranes: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009 Dec;147(2):124-9.

215. Van der Meer IM, Karamali NS, Boeke AJ, Lips P, Middelkoop BJ, Verhoeven I, et al. High prevalence of vitamin D deficiency in pregnant non –Western women in Hague, Netherlands. *American journal of clinical Nutrition* 2006;84:350-353
216. Vandevijvere St, Amsalkhir S, Van Oyen, Moreno-Reyes R, High Prevalence in Vitamin D Deficiency in Pregnant Women: A National Cross-Sectional Survey *PLoS One*. 2012; 7(8): e43868.
217. Verburg PE, Tucker G, Scheil W, Erwich JJ, Roberts CT, Dekker GA Seasonality of pregnancy induced hypertensive disorders in South Australia - A retrospective population study 2007-2011. *Pregnancy Hypertens*. 2015 Jan; 5(1): 91.
218. Verstyf A, Carmeliet G, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D:a pleiotropic hormone. *Kidney Int*. 2010; 78: 140-5.
219. Vieth R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*. 1999 May; 69(5): 842-56.
220. Viljakainen HT, Saarnio E, Hytinantti T, et al. Maternal vitamin D status determines bone variables in the newborn. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Apr;95(4):1749-57.
221. Viswanathan S, Khasawneh W, McNelis K, Dykstra C, Amstadt R, Super DM, Groh-Wargo S, Kumar D. Metabolic bone disease: a continued challenge in extremely low birth weight infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014 Nov;38(8):982-90.
222. Vitamin D supplementation: Recommendation for Canadian mothers and infants. *Paediatr Child Health* 2007;12:583-98
223. Wagner CL, Baggerly C, McDonnell SL, et al. Post-hoc comparison of vitamin D status at three timepoints during pregnancy demonstrates lower risk of preterm birth with higher

- vitamin D closer to delivery. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014 Nov 13. pii: S0960-0760(14)00268-4.
224. Wagner CL, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *American Academy of Pediatrics Section of Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition Pediatrics* 2008;122;1142-52
225. Wei SQ, Audibert F, Hidiroglou N, Sarafin K, Julien P, Wu Y, Luo ZC, Fraser WD. Longitudinal vitamin D status in pregnancy and the risk of pre-eclampsia. *BJOG.* 2012 Jun;119(7): 832-9.
226. Wei SQ, Qi HP, Luo ZC, Fraser WD Maternal vitamin D status and adverse pregnancy outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013 Jun; 26(9): 889-99.
227. Weinert LS, Silveiro SP Maternal-fetal impact of vitamin d deficiency: a critical review. *Matern Child Health J.* 2015 Jan; 19(1): 94-101.
228. Weisman Y, Harell A, Edelstein S, David M, Spirer Z, Golander A. 1 alpha, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ in vitro synthesis by human decidua and placenta. *Nature* 1979; 281: 317–9.
229. Xu L, Lee M, Jeyabalan A, Roberts JM. The relationship of hypovitaminosis D and IL-6 in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Feb; 210(2): 149. e1-7.
230. Yoon BH, Jun JK, Park KH, Syn HC, Gomez R, Romero R. Serum C-reactive protein, white blood cell count, and amniotic fluid white blood cell count in women with preterm premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol.* 1996 Dec; 88(6): 1034-40.

231. Zeghoud F, Vervel C, Guillozo H, et al. Subclinical vitamin D deficiency in neonates: definition and response to vitamin D supplements. *Am J Clin Nutr* 1997; 65:771-8.
232. Zehnder D, Evans KN, Kilby MD, Bulmer JN, Innes BA, Stewart PM, et al. The ontogeny of 25-hydroxyvitamin D3 1 alpha-hydroxylase expression in human placenta and decidua. *Am J Pathol* 2002;161:105-14
233. Zhang C, Qui C, Hu FB, David RM, van Dam RM, Bralley A, et al. Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and the risk for gestational diabetes mellitus. *PLoS One* 2008;3:e3753
234. Zhu K, Whitehouse AJ, Hart PH, Kusel M, Mountain J, Lye S, Pennell C, Walsh JP. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res.* 2014;29(5):1088-95.
235. Zitterman A, Dembinski J, Stehle P. Low vitamin D status is associated with low cord blood levels of the immunosuppressive cytokine interleukin-10 *Pediatr. Allergy Immunol.* 2004;15:242-246
236. Zuhur SS, Erol RS, Kuzu I, Altuntas Y. *Clinics Sao Paulo.* The relationship between low maternal serum 25-hydroxyvitamin D levels and gestational diabetes mellitus according to the severity of 25-hydroxyvitamin D deficiency. 2013 May; 68(5):658-64.

Левкоцитен брой на майката

Микробиологични изследвания при раждане /влагалищен секрет.....
/урокултура...../

Профилактика с КС: завършена..... незавършена

Раждане по ред

Начин на родоразрешение : по нормален механизъм перативно
планово /спешно

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

ВИТАМИН Д СТАТУС И КАЛЦИЕВО-ФОСФОРНА ОБМЯНА ПРИ НЕДОНОСЕНИ ДЕЦА С ТЕГЛО ПОД 1500 ГР И ≤ 32 г.с.

Бебе №..... ИЗ Дата на раждане.....

Патология през бременността:

Начин на раждане:; пол; Близнак I, II.....; КС профилактика

Тегло ;

Гест. седмици: хронологично г.с; морфологичног.с.

ИУ Ретардация.....; % по кривите за ИУ растеж

Апгар 1/5мин/...../..... Реанимация в РЗ: аспирация ...

Обдишване ... / интубация+ИВ ... / алкализация... / Адреналин /
сърд.масаж

Са-Р обмяна – параклинични изследвания

| | Са | Са ⁺⁺ | Р | АР | Общ белтък | Паратхормон |
|----------------------|----|------------------|---|----|------------|-------------|
| До 3 д. (изходни) | | | | | | |
| 2 седм. (14-20д) | | | | | | |
| 4 седм. | | | | | | |
| 6 седм | | | | | | |
| 8 седм | | | | | | |

Vit D: Майка / Бебе (При ражд); 8 седмици

Рентгенографии:; Фрактури (.....ден)

Лечение:

Сърфактант..... ; Продължителност на **ИВ** (вс.дни) ; **НFOV**дни;

O₂ (дни) ... ; на 28 ден ; на 36 г.с. (%)

Дексаметазон: I курс отден

Брой курсове:; стандартни/ кратки

Урбазон: Апликации – до 5; 5-10;; >10.....

Диуретици: Фурантрил.....; Спиринолактон

Хемотрансфузии (брой през I месец)

Хранене: ТПХ дни, Захранване ден; Допълващо ПХ дни;
Ентерално

Вит. D₂ / D₃ отден; доза

Са

Престой: дни

Изход: здраво (без същ.отклонения).... / с хрон.усложн*... ./ Ex.letalis

....

| Пневмоторакс, Б.др.кр; ПАК | БПД (степен) O ₂ на 36 г.с. | ЦНС: ИВК III- IV; ПВЛ; Хидроцеф. | ROP (степен) | Друго |
|-------------------------------|---|---|-----------------|-------|
| | | | | |

Основни диагнози: