**Streszczenie pracy doktorskiej lek. Izabeli Szymońskiej**

Promotor: prof. dr hab. Przemko Kwinta
Promotor pomocniczy: dr hab. Mateusz Jagła
Temat pracy doktorskiej: ***„Early profile of glycaemia in very low birth weight infants"***
***(„Wczesny profil glikemii u noworodków z bardzo małą urodzeniową masą ciała")*** – cykl publikacji

## Wstęp

Zaburzenia glikemii u noworodków VLBW stanowią powszechny problem, a ich przyczyny i konsekwencje są obiektem zainteresowań od wielu lat. Wprowadzenie systemów ciągłego monitorowania glukozy w czasie rzeczywistym otworzyło nową erę dla badań nad hipoglikemią i hiperglikemią noworodków oraz umożliwiło analizę zmienności glikemii. System ciągłego monitorowania glikemii, który stosowany był w badaniach objętych cyklem publikacji, umożliwiał pomiar stężenia glukozy w płynie śródtkankowym co 5 minut, dając w sumie 288 pomiarów na dobę. W ten sposób możliwe było wiarygodnie określenie częstości hiperglikemii w populacji noworodków VLBW, jej czynników ryzyka oraz skutków. Zmienność glikemii jest stosunkowo nowym parametrem, czynniki ryzyka zwiększonej GV nie są do końca poznane, podobnie jak jej wpływ na intensywnie rozwijający się organizm noworodka przedwcześnie urodzonego.

## Cel badań, problemy badawcze

Głównym celem prowadzonych badań było określenie epidemiologii zaburzeń glikemii, w tym hiperglikemii, hipoglikemii oraz zmienności glikemii z wykorzystaniem nowych metod monitorowania śródtkankowego poziomu glikemii wśród noworodków VLBW. Dodatkowym celem była ocena czynników ryzyka wystąpienie tych zaburzeń i ich związku z powikłaniami wcześniactwa.

Na podstawie zebranych danych podjęto próbę odpowiedzi na następujące szczegółowe pytania badawcze:

1. Jakie jest bezpieczeństwo stosowania systemu ciągłego monitorowania glikemii w grupie noworodków VLBW?

2. Jaka jest częstość hiperglikemii w grupie noworodków VLBW?

3. Jakie są czynniki ryzyka hiperglikemii w grupie noworodków VLBW?

4. Jaki jest wpływ podaży dożylnej glukozy, białek, lipidów i płynów na występowanie hiperglikemii?

5. Jaka jest częstość wczesnych i późnych powikłań wcześniactwa w grupach noworodków VLBW bez i z klinicznie istotną hiperglikemią?

6. Czy istnieje zależność pomiędzy zmiennością glikemii i wiekiem płodowym u noworodków VLBW?

7. Jakie są czynniki ryzyka zwiększonej zmienności glikemii u noworodków VLBW?

8. Czy istnieje związek pomiędzy zmiennością glikemii w pierwszym tygodniu życia i występowaniem retinopatii wcześniaków?

**Materiał i metody**

Do badania włączono noworodki hospitalizowane w Oddziale Patologii i Intensywnej Terapii Noworodka Kliniki Chorób Dzieci Katedry Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Pomiaru śródtkankowego stężenia glukozy dokonywano za pomocą systemu ciągłego monitorowania glikemii (Guardian Real-Time CGM®, Medtronic, Northridge, USA), z wykorzystaniem elektrody pokrytej oksydazą glukozową (SofSensor®, Medtronic, Northridge, USA) założonej do tkanki podskórnej bocznej części uda (Fot. 1).

Fotografia 1. Elektroda i bezprzewodowy transmiter systemu ciągłego monitorowania glikemii umieszczone w tkance podskórnej bocznej części uda.

Pomiary wykonywane były co 5 minut, czyli 288 razy na dobę. Dokonywano ich przez pierwszy tydzień życia pacjenta. Kalibrację systemu przeprowadzano co najmniej co 8 godzin, uzyskując próbkę krwi z tętnicy pępkowej lub promieniowej. Do kalibracji wykorzystywano metodę enzymatyczną (Cobas b 221 POC, Roche Diagnostics, Germany). Dane z systemu ciągłego monitorowania glikemii oraz dane z kalibracji nie były zaślepione, w czasie rzeczywistym pozostawały do wglądu dla personelu medycznego. Stosowano jednolite schematy interwencji w przypadku hiperglikemii i hipoglikemii. Dodatkowo, u wszystkich dzieci obowiązywała jednolita strategia żywienia, zarówno w zakresie hiperalimentacji jak i minimalnego żywienia enteralnego. Do analizy danych ilościowych w zależności liczby porównywanych grup i rozkładu zmiennej stosowano testy parametryczne (test t-Studenta lub test ANOVA) lub nieparametryczne (test U Manna-Whitneya lub Kruskala-Wallisa). W przypadku zmiennych jakościowych stosowano test Chi-kwadrat lub dwustronny test Fishera. Do kategoryzacji i modelowania zależności pomiędzy danymi wykorzystywano modele regresji jedno-

i wieloczynnikowej. Ocenę korelacji przeprowadzono z zastosowaniem testu nieparametrycznego rho-Spermana. Różnice i zależności uznano za istotne statystycznie, jeżeli prawdopodobieństwo odrzucenia prawdziwej hipotezy zerowej wynosiło mniej niż 5% ($p<0.05$).

**Materiał i metody (dotyczy artykułu 1)**

Kryteria włączenia do badania stanowiły: wiek płodowy poniżej 32 tygodni, masa urodzeniowa mniejsza niż 1500 g, przyjęcie od Oddziału w pierwszej dobie życia. Kryteria wyłączenia obejmowały: wrodzone wady rozwojowe, cukrzycę u matki, podejrzenie wrodzonej wady metabolizmu, uraz okołoporodowy oraz zamartwicę. Do badania zakwalifikowano noworodki spełniające kryteria, hospitalizowane w okresie od stycznia 2013 do września 2014 roku. Ze względu na obserwowane wartości śródtkankowej glikemii pacjentów podzielono na następujące grupy:

Grupa A: poniżej 5% pomiarów wskazywało wartości śródtkankowej glikemii powyżej 150 mg/dL (grupa kontrolna)

Grupa B: powyżej 5% pomiarów wskazywało wartości śródtkankowej glikemii powyżej 150 mg/dL, ale poniżej 5% pomiarów wskazywało wartości śródtkankowej glikemii powyżej 180 mg/dL (grupa łagodnej hiperglikemii)

Grupa C: powyżej 5% pomiarów wskazywało wartości śródtkankowej glikemii powyżej 180 mg/dL albo pacjent był leczony insuliną (grupa umiarkowanej/ciężkiej hiperglikemii)

Analizie poddano korelacje pomiędzy stężeniami śródtkankowej glikemii oraz podażą poszczególnych składników żywienia pozajelitowego. Zbadano również czynniki ryzyka hiperglikemii oraz określono częstość powikłań wśród pacjentów poszczególnych grup.

**Materiał i metody (dotyczy artykułu 2)**

Kryteria włączenia do badania stanowiły: masa urodzeniowa mniejsza niż 1500 g, przyjęcie do Oddziału w pierwszej dobie życia. Kryteria wyłączenia stanowiły: wrodzone wady rozwojowe, cukrzyca u matki, podejrzenie wrodzonej wady metabolizmu, uraz okołoporodowy oraz zamartwica. Do badania zakwalifikowano noworodki spełniające powyższe kryteria hospitalizowane w okresie od stycznia 2013 do stycznia 2015 roku. Za zakres prawidłowej glikemii uznano przedział od 70 do 180 mg/dL.

Na podstawie zebranych danych (mediana 119,1 godzin pomiarów na pacjenta) policzone zostały następujące wskaźniki zmienności glikemii: odchylenie standardowe (SD), współczynnik zmienności (CV - *coefficient of variation*), MODD (*mean daily differences*) i MAGE (*mean amplitude of glycemic excursions*). Analizowano istnienie i siłę korelacji pomiędzy zmiennością glikemii a wiekiem płodowym. Dodatkowo zbadano czynniki ryzyka większej zmienności glikemii.

**Materiał i metody (dotyczy artykułu 3)**

Badanie miało charakter badania kliniczno-kontrolnego. Do grupy badanej włączono noworodki przedwcześnie urodzone z masą urodzeniową mniejszą niż 1251 g, które rozwinęły retinopatię

wcześniaczą wymagającą leczenia (*ROP type I*) hospitalizowane w Oddziale w okresie od stycznia 2013 do grudnia 2015 roku.

ROP wymagający leczenia zdefiniowano zgodnie z obowiązującymi kryteriami [28]):

1) każde stadium ROP z objawem plusa w strefie I,

2) stadium 3 ROP bez objawu plusa w strefie I oraz

3) stadium 2 lub 3 ROP z objawem plusa w strefie II.

Grupę kontrolną stanowiły noworodki bez retinopatii lub ze stwierdzoną mniej zaawansowaną postacią choroby dopasowane indywidualnie pod względem wieku płodowego (+/- 1 tydzień) i masy urodzeniowej (+/- 100g). Za zakres prawidłowych glikemii uznano wartości od 70 do 180 mg/dL. Wszystkie noworodki były badane zgodnie z wytycznymi Międzynarodowej Klasyfikacji ROP [29]. Badanie było przeprowadzone przez wykwalifikowanego, doświadczonego okulistę, po rozszerzeniu źrenicy, za pomocą dwuocznego bezpośredniego oftamoskopu (Keeler Instruments Inc, Malvern, PA) i weryfikowane za pomocą cyfrowego obrazowania (RetCam imaging system, Clarity Madical Systems, Pleasanton, CA) [29].

Na podstawie zebranych danych wyliczono następujące wskaźniki zmienności glikemii: SD, CV oraz MAGE. Przeprowadzono analizę związku zmienności glikemii w pierwszym tygodniu życia u badanych noworodków i występowaniem ROP. Określono czynniki ryzyka rozwoju ROP wymagającego leczenia.

**Etyka**

Protokół badania został zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego (decyzja z dnia 24.05.2012, nr zgody: KBET/68/B/2012). Rodzice/opiekunowie każdorazowo otrzymywali obszerną pisemną informację na temat udziału w badaniu. Rodzice/opiekunowie wszystkich dzieci włączonych do badania podpisali formularz świadomej zgody na udział w badaniu. Zostali również poinformowani o możliwości wycofania zgody na udział dziecka w badaniu na każdym jego etapie.

**Podsumowanie wyników**

Poniżej podsumowano najważniejsze wyniki prezentowane w poszczególnych publikacjach

**Artykuł nr 1 opublikowany w *Developmental Period Medicine***

W badaniu przedstawiono wyniki analizy danych pozyskanych od 63 pacjentów. Uzyskano 102 334 pomiary śródtkankowej glikemii. Glikemie powyżej 150 mg/dL stwierdzano u 84,1 % (n=53), a powyżej 180 mg/dL u 34,9% (n=22) pacjentów. Najwyższy uzyskany pomiar wynosił 302 mg/dL. Liczba pomiarów poniżej 70 mg/dL wynosiła 4003, co stanowiło 3,9% wszystkich pomiarów, jednakże tylko 0,17% pomiarów było poniżej 46 mg/dL, stwierdzono je u 13 pacjentów.

Na podstawie długości okresów hiperglikemii 36 pacjentów włączono do Grupy A, 19 pacjentów do Grypy B i 8 pacjentów do Grupy C. W Grupie A zanotowano istotnie niższe średnie stężenie śródtkankowej glukozy w dniach 3, 4, 5 i 7 (Kruskal Wallis test) względem pozostałych grup. W Grupie C istotnie niższa była podaż dożylnej glukozy w 4, 5 i 6 dobie życia. Nie obserwowano różnic pomiędzy grupami w podaży płynów, lipidów i białek.

Czynnikami ryzyka występowania hiperglikemii były niższy wiek płodowy, wyższa punktacja w skali CRIB II (*Critical Risk Index for Babies II*) oraz występowanie posocznicy o wczesnym początku (EOS - *early onset sepsis*). W modelu regresji liniowej jedynie wyższa punktacja w skali CRIB II była niezależnym czynnikiem ryzyka występowania hiperglikemii umiarkowanej/ciężkiej.

Wśród badanych punktów końcowych nie wykazano istotnych różnic pomiędzy grupami, jedynie tendencję do większej śmiertelności przed ukończeniem 28. doby życia oraz występowaniem krwawienia dokomorowego. Nie stwierdzono objawów niepożądanych związanych ze stosowaniem systemu ciągłego monitorowania glukozy.

**Artykuł nr 2 opublikowany w *The Journal of Maternal-Fetal &Neonatal Medicine***

W badaniu analizowano dane 74 pacjentów. Mediana wieku płodowego badanych dzieci wynosiła 28 tygodni (IQR 27-31), średnia masa urodzeniowo 1066g (SD 267), mediana punktów w skali CRIB II 7 (IQR 5-10). Żaden pacjent nie był leczony insuliną.

Wszystkie policzone parametry zmienności glikemii (SD, CV, MAGE, MODD) miały rozkład log-normalny, ich miarę środkową wyrażono jako średnią geometryczną. Korelacja (rho-Spearmana) pomiędzy wszystkimi parametrami zmienności glikemii a wiekiem płodowym była negatywna. W modelu regresji wieloczynnikowej wszystkie parametry zmienności glikemii wykazały negatywną korelację z wiekiem płodowym i pozytywną korelację z wartością średniej geometrycznej stężeń śródtkankowej glukozy. Średnia podaż dożylnej glukozy, punktacja w skali CRIB II, występowanie posocznicy o wczesnym początku, krwawienia dokomorowego III/IV stopnia oraz płeć dziecka nie wykazały korelacji ze zmiennością glikemii. Stosowanie systemu ciągłego monitorowania glukozy było bezpieczne, nie stwierdzano objawów niepożądanych.

**Artykuł nr 3 opublikowany w *Retina***

Do grupy badawczej zakwalifikowano 20 noworodków urodzonych przedwcześnie z ROP wymagającą leczenia (ROP typu 1), a do grupy kontrolnej 40 noworodków odpowiednio dobranych pod względem wieku płodowego i urodzeniowej masy ciała. Grupy nie różniły się również pod względem płci, przedporodowej podaży steroidów, punktacji w skali Apgar w 5 minucie życia oraz punktacji w skali CRIB II. Grupy nie różniły się między sobą pod względem konieczności podaży surfaktantu, występowania hemodynamicznie istotnego przetrwałego przewodu tętniczego oraz występowania leukomalacji okołokomorowej. Noworodki z ROP typu 1 istotnie częściej niż grupa kontrolna miały zdiagnozowane krwawienie dokomorowe stopnia 3 lub 4 (p=0.048), dłużej wymagały tlenoterapii (p=0.003). Nie obserwowano różnic pomiędzy grupami w liczbie transfuzji koncentratu krwinek

czerwonych, świeżo mrożonego osocza, koncentratu krwinek płytkowych oraz albumin. Analizie poddano 99 310 pomiarów glikemii. Nie stwierdzono różnic w średnich wartościach glikemii, natomiast parametry zmienności glikemii (SC, CV, MAGE) były istotnie wyższe w grupie dzieci z ROP. Podobnie liczba epizodów hiperglikemii (>150 mg/dL) była istotnie większa w tej grupie. W modelu wieloczynnikowej regresji logistycznej dłuższa terapia tlenem oraz wyższe wartości parametrów zmienności glikemii były związane z wyższym ryzykiem wystąpienia ROP wymagającej leczenia.

**Wnioski**

Na podstawie uzyskanych danych wykazano, że umiarkowana hiperglikemia (glikemia >150 mg/dL) u noworodków VLBW jest zjawiskiem powszechnym, a glikemie >180 mg/dL obserwowane są u ponad 1/3 pacjentów. Wśród noworodków VLBW z grupy umiarkowanej/ciężkiej hiperglikemii obserwowano istotnie mniejszą podaż dożylnej glukozy względem pozostałych grup. Nie obserwowano różnic pomiędzy grupami w podaży dożylnych płynów, lipidów i białek. Jako czynniki ryzyka hiperglikemii określono niższy wiek płodowy oraz cięższy stan kliniczny (skala CRIB II).

Częstość wczesnych i późnych powikłań wcześniactwa nie różniła się istotnie pomiędzy grupami o łagodnej hiperglikemii oraz umiarkowanej/ciężkiej hiperglikemii.

Stwierdzono, że czynnikiem ryzyka zwiększonej zmienności glikemii jest niższy wiek płodowy. Dodatkowo wykazano, że u noworodków VLBW wyższa zmienność glikemii, obok czasu trwania tlenoterapii, może być niezależnym czynnikiem ryzyka rozwoju ROP wymagającego leczenia.

W powyższych badaniach wykazano, że zastosowanie systemu ciągłego monitorowania glukozy w grupie noworodków VLBW jest bezpiecznie, nie obserwowano działań niepożądanych.

## Summary

### Introduction

Disturbance of glucose metabolism is one of the most prevalent metabolic condition in very low birth weight (VLBW) infants. Many studies were performed to understand the pathogenesis of dysglycemia, identify etiology and consequences. Recent use of continuous glucose monitoring systems (CGM) enables real time interstitial glucose level observations. Analysis of hypoglycemia, hyperglycemia and glycemic variability (GV) have become more reliable. The CGM system used in this study, conducted 288 interstitial glucose level measurements daily, in 5-minute intervals. This allowed detailed assessment of hyperglycemia incidence rate in VLBW infants, define its risk factors and analyze outcomes. The glycemic variability is a relatively new parameter. The risk factors of increased GV in VLBW infants were not investigated properly, similarly to its impact on the intensively developing organism of a premature infant.

### Research purpose, research problems

The main aim of the study was to determine the epidemiology of glycemic disorders (including hyperglycemia, hypoglycemia and glycemic variability) in VLBW infants with use of a new method - continuous interstitial glucose monitoring system. Additionally, the study aimed to assess the risk factors for glucose level disorders and their relation with complications of prematurity.

Specifically, we analyzed the following issues:

1. The safety of using continuous glucose monitoring systems in VLBW infants

2. Incidence rate of hyperglycemia in VLBW infants

3. The risk factors of hyperglycemia in VLBW infants

4. Primary and secondary outcomes of hyperglycemia in VLBW infants, grouped by its severity

5. Relationship between gestational age and GV in VLBW infants

6. Risk factors of increased GV in VLBW infants

7. The correlation between GV in the first week of life and the incidence of the retinopathy of prematurity (ROP)

### Patients and methods

VLBW infants hospitalized in the Neonatal Intensive Care Unit, Department of Pediatrics, Jagiellonian University Collegium Medicum, Krakow, Poland were included in the study.

For glucose measurements, a continuous glucose monitoring system was used (Guardian Real-Time CGM®,Medtronic, Northridge, CA). The continuous glucose monitoring sensor (SofSensor®, Medtronic, Northridge,CA) was inserted into the subcutaneous tissue of the lateral side of the thigh,

from which measurements were recorded every 5 minutes during the first week of life. The CGM system was calibrated at least 3 times daily with a blood sample obtained from the radial or umbilical arterial lines infused only with a heparin solution. The data from the CGM system, as well as calibration values were not blinded and were available for clinicians.

A uniform intervention protocol was used, regarding hyperglycemia and hypoglycemia, nutrition strategy and minimal enteral feeding.

Student t, $\chi 2$, ANOVA, Kruskal Wallis, and Mann-Whitney U tests were used to compare baseline and outcome variables, as appropriate. Chi-square or Fisher's exact test were used to compare categorical values. Dependencies between features were evaluated with single and multiple logistic regression. Spearman's rank correlation coefficients were also calculated, where suited. Probability values below 0.05 were considered statistically significant.

**Patients and methods (applies to article No 1)**

From January 2013 to September 2014 neonates admitted to the unit during the first day of life were eligible for the study if they were born below 32 weeks of gestation and had less than a 1500 g of birth weight. Exclusion criteria were: major congenital malformations, a diabetic mother, and suspicion of an inborn error of metabolism, perinatal trauma and asphyxia.

Patients were classified into 3 groups, according the time of hyperglycemia occurrence:

1) group A: <5% of the total reading time of all the measurements was over 150 mg/dL of glucose (control group),

2) group B: >5% of the reading time was >150 mg/dL of glucose but the number of measurements over 180 mg/dl was <5% of the measurements overall (mild hyperglycemia),

3) group C: >5% of the total reading time was over 180 mg/dL of glucose, or patients were treated with insulin infusion (moderate or severe hyperglycemia).

Mean daily glucose concentration, mean nutrition intake and outcomes were analyzed.

**Patients and methods (applies to article No 2)**

Neonates were eligible for the study if admitted to the hospital during the first day of life between January 2013 to January 2015 and weighed at birth 1500 g or less. Exclusion criteria were: major congenital malformations, a diabetic mother, and suspicion of an inborn error of metabolism, perinatal trauma and asphyxia. The normal range of plasma glucose concentrations was defined between 70 and 180 mg/dL.

Results obtained during GMS measurements (median 119.1 hours per patient) allowed to calculate glucose variability indices, such as: standard deviation (SD), coefficient of variation (CV), mean daily differences (MODD) and mean amplitude of glycemic excursions (MAGE). Correlation between

glycemic variability and gestational age were analyzed. Additionally, we studied the risk factors of higher glycemic variability.

**Patients and methods (applies to article No 3)**

Infants admitted to the neonatal intensive care unit between January 2013 and December 2015 with birth weights less than 1,251 g and who developed Type 1 ROP (n = 22) was included in this study.

Type 1 ROP was defined as ROP requiring treatment according to the early treatment for ROP criteria:

1) any stage of ROP with plus disease in Zone I,

2) Stage 3 of ROP without plus disease in Zone I, and

3) Stage 2 or 3 of ROP with plus disease in Zone II.

This was a case-control study. Controls with either less severe ROP or no eye disease were individually matched for gestational age within 1 week and birth weight within 100 g (case–control ratio of 1:2). The normal range of plasma glucose concentrations was defined between 70 and 180 mg/dL.

All infants were examined according to the diagnostic guidelines of the International Classification of ROP revisited. Examinations were performed by a pediatric ophthalmologist after mydriasis using a binocular indirect ophthalmoscope (Keeler Instruments Inc, Malvern, PA) and verified by digital imaging using a RetCam imaging system (Clarity Medical Systems, Pleasanton, CA). Treatment was performed in all infants with indications outlined in the early treatment for ROP criteria.

Based on obtained data glycemic variability indices were calculated: standard deviation (SD), coefficient of variation (CV) and mean amplitude of glycemic excursions (MAGE). Relationship between GV in first week of life and the incidence of ROP were analyzed. Risk factors for development of ROP type 1 were defined.

**Ethics**

The study protocol was approved by the Jagiellonian University Ethics Committee, and written informed consent was obtained from a parent of each infant. Parents were well informed about all withdrawal options on all stages while performing the study.

**Summary of the results**

**Article No1 published in *Developmental Period Medicine***

In the study we presented results of data analysis obtained from 63 patients, that met the inclusion criteria. A total of 102 334 glucose measurements were recorded by the continuous glucose monitoring system. Glucose levels >150 mg/dL occurred in 84.1% (n=53) of infants, >180 mg/dL in 34.9% (n=22) of infants, and >270 mg/dL in 4.8% (n=3). The highest glucose concentration registered was 302 mg/dL. Only 0.17% (169 measurements) of all the readings showed a glucose level of 46 mg/dL or lower and occurred in 13 patients.

Based on the periods of hyperglycemia 36 infants were included into Group A, 19 infants into Group B and 8 infants into Group C. In Group A, a significantly lower mean interstitial glucose concentration level, comparing to other groups, was found on day 3, 4, 5 and 7 (Kruskal Wallis test). In Group C the intravenous glucose intake was significantly lower on 4, 5 and 6 day of life. There were no differences between groups in terms of fluids, lipids and proteins intake.

The risk factors of hyperglycemia were lower gestational age, higher Critical Risk Index for Babies II score (CRIB II) and an early onset sepsis (EOS). In the linear regression model, only the higher CRIB II score were independent risk factor of moderate/severe hyperglycemia.

The study showed no differences between studied clinical outcomes in particular groups, only the tendency to increased mortality by the 28th day of life was observed.

The usage of the continuous glucose monitoring system was safe in VLBW infants.

**Article No 2 published in *The Journal of Maternal-Fetal &Neonatal Medicine***

74 patients enrolled in the study. The mean gestational age was 28 weeks (IQR 27-31), mean birth weight was 1066 g (SD 267), the median CRIB II was 7 (IQR 5-10). None of the analyzed infants needed insulin infusion.

All calculated glucose variability indices (SD, CV, MAGE, MODD) were shown as geometric mean. The correlation (rho-Spearman) between all glycemic variability indices and gestational age was negative. For the multiple regression analysis, all glycemic variability indices negatively associated with gestational age and positively correlated with mean interstitial fluid glucose concentration. Covariates such as mean glucose daily intake, CRIB II score, incidence of early onset sepsis, grade III/IV of intraventricular hemorrhage and gender were not correlated with glycemic variability in the regression model.

The study confirmed the usefulness and safety of the continuous glucose monitoring system in VLBW neonates.

**Article No 3 published in *Retina***

A total of 20 premature infants with Type 1 ROP were enrolled in the study. Retinopathy of prematurity infants were individually matched with 40 controls for gestational age and birth weight. There was no significant difference in gender and antenatal steroid administration. At the start of the study, the severity of illness was not different between groups, as measured by the Clinical Risk Index for Babies II and Apgar scores at 5th minutes. A total of 99,310 glucose measurements were analyzed. No differences in surfactant treatment, incidence of hemodynamically significant patent ductus arteriosus, and periventricular leukomalacia were observed between groups. Patients with Type 1 ROP were diagnosed with intraventricular hemorrhage Grade 3 or 4 more often than the control group ($P = 0.048$) and required longer oxygen treatments ($p=0.003$). No differences in red blood cells, fresh frozen plasma, albumin, and platelet transfusion were observed between groups. No statistically significance difference

was observed in the mean interstitial tissue glucose concentration for the first week of life. However, patients in the ROP group presented significantly higher glucose variability indices (SC, CV, MAGE). Similarly, the count of hyperglycemic episodes (>150 mg%) was higher in that group of patients. In multiple logistic regression analysis, comparing type 1 ROP with the control group, longer oxygen exposure, and GV indices (SD, CV, and MAGE) were significantly associated with severe ROP after adjusting to other risk factors.

**Conclusions**

Based on conducted studies, we have observed that the usage of continuous glucose monitoring system in VLBW neonates is safe - no side effects were noted. It was proven that hyperglycemia (glucose > 150 mg%) in VLBW infants is a common symptom and the glucose levels >180 mg% were observed in more than a 1/3 of patients. VLBW infants with moderate/severe hyperglycemia received significantly lower intravenous glucose administration comparing to other groups. There were no differences between groups in fluids, lipids and proteins intake.

Lower gestational age and more severe clinical status were defined as risk factors for hyperglycemia. However, no statistical differences regarding primary and secondary outcomes between groups of hyperglycemia were noted. Lower gestational age was shown as a risk factor for increased glycemic variability. Additionally, higher glucose variability and longer oxygenation exposure in VLBW infants are independent factors of developing a treatment-requiring ROP.