Katarzyna Kaźmierska

Ocena stanu odżywienia, jako czynnika potencjalnie monitorującego przebieg kliniczny mukowiscydozy u dzieci - badanie prospektywne

Praca na stopień doktora nauk medycznych

Promotor: dr hab. n. med. Agnieszka Szlagatys-Sidorkiewicz

Klinika Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia dzieci
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Gdańsk 2015

Pragnę serdecznie podziękować
Pani dr hab. Agnieszce Szlagatys-Sidorkiewicz
za cenne wskazówki i pomoc w realizacji tej pracy
oraz mojej najbliższej Rodzinie za wsparcie.

Spis treści

Spis treści **3**
Wykaz skrótów używanych w pracy **5**
1. Wstęp **6**
1.1. Mukowiscydoza **6**
1.1.1. Rys historyczny **6**
1.1.2. Epidemiologia **6**
1.1.3. Patofizjologia **7**
1.1.4. Kryteria rozpoznania **9**
1.1.5. Objawy kliniczne mukowiscydozy **10**
1.1.5.1. Objawy ze strony układu oddechowego **10**
1.1.5.2. Objawy ze strony układu pokarmowego **12**
1.1.5.3. Objawy z innych narządów **14**
1.2. Ocena stanu odżywienia **15**
1.2.1. Badania antropometryczne **15**
1.2.2. Ocena składu ciała **17**
1.2.3. Biochemiczne wskaźniki stanu odżywienia **19**
1.3. Stan odżywienia w mukowiscydozie **21**
1.3.1. Przyczyny zaburzeń odżywienia u dzieci z mukowiscydozą **21**
1.3.2. Pogłębiona ocena stanu odżywienia u dzieci z mukowiscydozą **23**
1.4. Leczenie żywieniowe **28**
1.5. Podsumowanie **30**
2. Cele pracy **31**
3. Materiał i metody **32**
3.1. Charakterystyka badanej populacji dzieci **32**
3.1.1. Charakterystyka grupy chorych dzieci z mukowiscydozą **32**
3.1.2. Charakterystyka grupy referencyjnej. **33**
3.2. Metodologia **34**
3.2.1. Badanie podmiotowe **35**
3.2.2. Ocena wydolności oddechowej **36**
3.2.3. Ocena kolonizacji dróg oddechowych **36**
3.2.4. Ocena wydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki **37**
3.2.5. Badanie przedmiotowe **37**
3.2.6. Ocena stanu odżywienia **39**
3.2.7. Ocena składu ciała **39**
3.2.8. Badania laboratoryjne **41**
3.3. Analiza statystyczna **45**
3.4. Zagadanienia etyczne **45**

4. Wyniki ... **46**
4.1. I etap badania – badanie przekrojowe ... **46**
4.1.1. Wyniki badań antropometrycznych ... **46**
4.1.2. Ocena składu ciała ... **52**
4.1.2.1. Wyniki badania antropometrycznego ... **52**
4.1.2.2. Wyniki badania BIA ... **54**
4.1.2.3. Ocena porównawcza dwóch metod oceny składu ciała u badanych pacjentów ... **56**
4.1.3. Wyniki badań laboratoryjnych ... **60**
4.1.3.1. Ocena stężenia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, 25(OH)D_3, E, K1) w surowicy. ... **60**
4.1.3.2. Ocena stężenia witaminy C w moczu ... **62**
4.1.3.3. Ocena profilu kwasów tłuszczowych we krwi ... **62**
4.1.4. Ocena zależności pomiędzy stanem odżywienia a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **72**
4.1.4.1. Ocena zależności między parametrami antropometrycznymi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **72**
4.1.4.2. Ocena zależności pomiędzy parametrami biochemicznymi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **76**
4.1.4.2.1. Ocena zależności między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **76**
4.1.4.2.2. Ocena zależności między stężeniem w moczu witaminy C a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **79**
4.1.4.2.3. Ocena zależności między profilem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF ... **80**
4.1.5. Ocena zależności między typem mutacji genu CFTR a parametrami stanu odżywienia u dzieci z CF ... **81**
4.2. II etap badania – badanie prospektywne ... **82**
4.2.1. Ocena porównawcza wyników badań antropometrycznych u dzieci z CF przeprowadzonych w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji ... **82**
4.2.2. Ocena porównawcza wyników analizy składu ciała u dzieci z CF przeprowadzonej w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji ... **88**
4.2.3. Ocena porównawcza wyników badań biochemicznych u dzieci z CF przeprowadzonych w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji ... **93**
5. Podsumowanie wyników ... **95**
5.1. I etap badania - badanie przekrojowe ... **95**
5.2. II etap badania - badanie prospektywne ... **97**
6. Dyskusja ... **99**
7. Wnioski ... **118**
8. Streszczenie ... **119**
9. Piśmiennictwo ... **121**
Załączniki ... **140**

Wykaz skrótów używanych w pracy

CF	-	mukowiscydoza (ang. cystic fibrosis)
CFTR	-	mukowiscydozowy przezbłonowy regulator przewodnictwa - gen (ang. cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)
ENaC	-	nabłonkowy kanał sodowy (ang. epithelial sodium channel)
ORCC	-	(ang. outwardly rectified chloride channel)
PI	-	niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki (ang. pancreatic insufficiency)
PS	-	wydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki (ang. pancreatic sufficiency)
FEV_1	-	natężona objętość wydechowa pierwszo sekundowa (ang. forced expiratory volume in 1 second)
FVC	-	natężona pojemność życiowa płuc (ang. forced vital capacity)
FEF_{25-75}	-	maksymalny środkowo-wydechowy przepływ (ang. forced expiratory flow 25 - 75%)
DIOS	-	ekwiwalenty niedrożności smółkowej kolonopatia włókniejąca (ang. distal intestinal obstruction syndrome)
CFRD	-	cukrzyca związana z mukowiscydozą (ang.cystic fibrosis related diabetes)
GERD	-	refluksowa choroba przełykowo-żołądkowa (ang. gastro-esophageal reflux disease)
IMiD	-	Insytut Matki i Dziecka w Warszawie
WHO	-	światowa organizacja zdrowia (ang. World Health Organization)
BIA	-	bioelektryczna analiza bioimpedancji (ang. bioelectrical impedance analysis)
DXA	-	metoda izotopowa ze znakowanym potasem do oceny całkowitej wody ciała (ang.dual energy X-ray absorptiometry)
FM	-	tłuszczowa masa ciała (ang. fat mass)
FFM	-	beztłuszczowa masa ciała (ang. fat free mass)
TBW	-	całkowita woda organizmu (ang. total body water)
ICW	-	woda wewnątrzkomórkowa (ang. intracellular water)
ECW	-	woda zewnątrzkomórkowa (ang. extracellular water)
CRP	-	białko C-reaktywne (ang. C- reactive protein)
RBP	-	białko wiążące retinol (ang. retinol binding protein)
IL-1, 8, 10	-	interleukina 1, 8, 10 (ang. interleukin - 1, 8, 10)
TNF-α	-	czynnik martwicy nowotworów α (ang. tumor necrosis factor α)
PIVKA	-	proteiny indukowane niedoborem witaminy K (ang. proteins induced by vitamin K absencje)
PIVKA II	-	niekarboksylowana protrombina (ang.: prothrombin inducted by vitamin K absence)
PT	-	czas protrombinowy (ang.: prothrombin time)
WNDKT	-	wielonienasycone długołańcuchowe kwasy tłuszczowe
EPA	-	kwas eikozapentaenowy (ang. eicosapentaenoic acid)
DHA	-	kwas dokozaheksaenowy (ang.docosahexaenoic acid)

1. Wstęp

1.1. Mukowiscydoza

1.1.1. Rys historyczny

Już w IX wieku „Saga Skandynawska" opisuje dziecko, które mogło chorować na mukowiscydozę: " Nieszczęsne dziecko, które pocałowane w czoło zostawia na ustach słony smak. Jest nawiedzone przez złe duchy i wkrótce umrze". Jednak historia medyczna mukowiscydozy zaczyna się w 1595 roku w Leiden, gdy pojawił się pierwszy opis sekcyjny sugerujący mukowiscydozę. Dotyczył on 11 letniej dziewczynki. Od połowy XVII wieku głównie w raportach sekcyjnych zaczęto zwracać uwagę na nieprawidłowości w zakresie trzustki i płuc. Natomiast poznanie choroby, mające wpływ na rozwój współczesnej wiedzy o CF (ang. Cystic Fibrosis), miało miejsce dopiero XX wieku. Dorothy Anderson, patolog z nowojorskiego szpitala dziecięcego, po raz pierwszy w raporcie sekcyjnym w 1938 roku, wprowadziła termin zwłóknienie torbielowate trzustki [1]. Natomiast terminu „mukowiscydoza", dotyczącej również innych gruczołów zewnątrzwydzielniczych, użył po raz pierwszy Syndey Farber w 1945 roku. W 1959 roku Gibson i Cook wprowadzili do diagnostyki, do tej pory skuteczny i używany, jako złoty standard w rozpoznawaniu CF – test potowy, wykonywany klasyczną metodą stymulacji gruczołów potowych, jonoforezą pilokarpinową. W latach 70. XX wieku naukowcy z Nowej Zelandii zaobserwowali, że w surowicy krwi noworodków z CF stężenie immunoreaktywnego trypsynogenu jest wyższe niż u zdrowych dzieci. Odkrycie to stało się podstawą powszechnie obecnie stosowanego w wielu krajach świata, również w Polsce, badania przesiewowego w kierunku CF [2]. Pod koniec 1980 roku, odkryto gen CFTR wraz z najczęstszą jego mutacją (delF508) [3]–[5]. Kolejne odkrycia przyczyniały się stopniowo do poprawy w zakresie leczenia objawowego. Mimo, że nadal trwają pracę nad leczeniem przyczynowym [6], to choroba najczęściej letalna we wczesnym dzieciństwie zmieniła się na przestrzeni lat w obejmującą wiele organów, genetycznie uwarunkowaną, postępującą chorobę przewlekła, dotyczącą w równej mierze dzieci i dorosłych.

1.1.2. Epidemiologia

Mukowiscydoza, czyli zwłóknienie torbielowate trzustki (łac. Mucoviscidosis) jest najczęściej występującą chorobą genetycznie uwarunkowaną wśród rasy kaukaskiej o autosomalnym recesywnym typie dziedziczenia.

Częstość występowania CF w populacji jest bardzo zróżnicowana. Przeciętna częstość jej występowania w Europie wynosi średnio 1 : 2500 żywo urodzonych noworodków [7]. W krajach Unii Europejskiej Farell i wsp. oszacowali częstość jej występowania od 1 : 1353 dla Irlandii do

1 : 25000 w Finlandii [8]. W Polsce częstość występowania mukowiscydozy szacuje się na 1 : 5000 [9].

1.1.3. Patofizjologia

Przyczyną choroby są mutacje genu zlokalizowanego na długim ramieniu chromosomu 7. Gen został sklonowany i ostatecznie scharakteryzowany w 1989 roku [5]. Jest jednym z większych genów ludzkich, zbudowany z 250 tysięcy par zasad i zawierający 27 fragmenty kodujące. Jego produktem białkowym jest białko CFTR (ang. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). Badania elektrofizjologiczne sugerują, że białko CFTR pełni funkcję niskowoltażowego kanału chlorkowego zależnego od cAMP w komórkach nabłonka wydzielniczego układu oddechowego, trzustki, jelita grubego, gruczołów potowych, wątroby i ślinianek. Kanał CFTR nie jest odizolowaną strukturą komórki, model jego działania jest bardziej skomplikowany. Współdziała z innymi kanałami komórkowymi między innymi ORCC (ang. Outwardly Rectified Chloride Channel) oraz ENaC (ang. Epithelial Sodium Channel). Funkcjonowanie kanału CFTR wydaje się też być zależne od innych dodatkowych determinant [10]. Białko CFTR odpowiada za uwodnienie wydzieliny śluzowej, wydzielniczych komórek nabłonkowych. Zmiany struktury i/lub funkcji białka CFTR, wskutek mutacji genu CFTR, prowadzą do zablokowania wypływu jonów chloru z komórek nabłonka, tym samym również wody oraz dodatkowym wchłanianiu jonów sodu. Prowadzi to do powstania gęstego, lepkiego, śluzu, który wywołuje objawy chorobowe mukowiscydozy. Innymi funkcjami kanału chlorkowego są regulacja wcześniej wspomnianego kanału sodowego (ENaC), ATP i transportu glutationu oraz kontrola syntezy wolnych rodników w mitochondrium, zakwaszania organelli wewnątrzkomórkowych oraz organizacja domen lipidowych w błonie komórkowej [11]. Białko CFTR jest również zaangażowane w proces błonowej endocytozy w komórkach nabłonkowych nerek [12] i układu oddechowego [13]. Może odgrywać kluczową rolę w odpowiedzi zapalnej komórek śródbłonka [14], [15].

Mutacje podzielono na pięć klas, w zależności od wpływu na ekspresję białka CFTR. Poszczególne mutacje prowadzą do: braku produkcji właściwego białka (klasa I), produkcji białka niezdolnego do transportu do błony szczytowej komórki (klasa II), produkcji białka niezdolnego do transportowania anionów chlorkowych (klasa III), produkcji białka nieprawidłowo przewodzącego jony (klasa IV) oraz ograniczonej produkcji prawidłowo funkcjonującego białka (klasa V) [16]–[18]. Do chwili obecnej zidentyfikowanych 1820 mutacji, najczęstszą jest mutacja delF508 [19], która należy do II klasy mutacji. Częstość jej występowania jest różna i waha się w zależności od populacji. Od 100% w duńskich wyspach Faroe [20] do tylko 28,4% w Turcji [21]. Grupa 20 mutacji, następnych pod względem częstości występowania obejmuje 0,1% wszystkich mutacji w światowej populacji chorych z CF. Występuje silna korelacja pomiędzy typem mutacji,

a ekspresją choroby [17], [18], [22]. Mutacjom z klas I – III przypisuje się ciężką postać CF, natomiast te z IV – V klas odpowiadają za łagodną ekspresję choroby [23]–[26]. Postać klasyczna mukowiscydozy, która obejmuje 85 - 90 odsetka wszystkich pacjentów, związana jest z całkowitą utratą funkcji kanału chlorkowego [22]. W tych przypadkach chorobę można rozpoznać już w pierwszych latach życia, wskutek ujawnienia się objawów związanych z niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki. Stopień korelacji genotyp - fenotyp, najsilniejszy jest w przypadku wydolności trzustki. Pacjenci będący homozygotami mutacji w klasach I – III mają niewydolność zewnątrzwydzielniczą trzustki (ang. PI - pancreatic insufficiency), podczas gdy jeden allel klasy IV – V w większości przypadków zapewnia wydolność tego narządu (ang. PS – pancreatic sufficiency) [27], [28]. Nie wykazano podobnej korelacji pomiędzy genotypem, a objawami oraz przebiegiem choroby płucnej lub zmianami w zakresie poziomów jonów chlorkowych w pocie. Brak ścisłej korelacji pomiędzy genotypem CFTR, a zmianami w układzie oddechowym tłumaczony jest rozległością zmian występujących w obrębie płuc oraz większym wpływem modulującym innych czynników niż genetyczne, w tym zarówno czynników środowiskowych, jak i drugorzędowych determinant genetycznych [29]. Jest to dowód na to, że istnieje ogromna zmienność fenotypowa CF u pacjentów nawet z takim samym genotypem. Po zlokalizowaniu, określeniu i sklonowaniu genu CFTR wydawało się, że lekarze zajmujący się leczeniem CF otrzymają możliwość zastosowania terapii genowej, dającej możliwość przyczynowego leczenia choroby. Niestety, pierwsze próby kliniczne terapii genowej nie przyniosły oczekiwanego sukcesu.

Rodzaj defektu molekularnego jest niezwykle istotnym czynnikiem predykcyjnym w mukowiscydozie [30], przeważnie obserwuje się łagodniejsze postacie CF u chorych, z conajmniej jedną łagodna mutacją. Jednakże na stopień ekspresji choroby i rokowanie ma wpływ również wiele innych, wzajemnie oddziaływujących czynników. Można je podzielić na trzy grupy: genetyczne, środowiskowe oraz te, które są związane z leczeniem, w tym dostępność do terapii, jej rodzaj i stosowanie się pacjentów do zaleceń. Czynniki genetyczne dzielimy na pierwszo i drugorzędowe determinanty genetyczne. Do grupy determinant pierwszorzędowych należą wszystkie znane dotychczas mutacje genu CFTR. Do drugorzędowych determinant genetycznych CF zalicza się czynniki genetyczne nazywane również modyfikatorami mukowiscydozy. Są to z reguły inne geny niż CFTR, zlokalizowane w różnych rejonach genomu. Badania na myszach transgenicznych CF wskazują, że najprawdopodobniejszym regionem, występowania jednego z takich modyfikatorów choroby, znajduje się na chromosomie 19. Wiedza o mutacji w genie CFTR jest już szeroka, natomiast badania drugorzędowych determinant znajdują się w fazie początkowej [29]. Do czynników genetycznych mających wpływ na ekspresję choroby zalicza się również płeć.

Wśród czynników środowiskowych kluczową rolę odgrywa narażenie na patogeny, w tym przewlekłe zakażenie *Pseudomonas aeruginosa*. Zakażenie tym patogenem jest czynnikiem pogarszającym rokowanie, co do przebiegu choroby, wpływając negatywnie na stopień wydolności płuc, stan odżywienia i częstość hospitalizacji [31], [32]. Istnieje również zależność pomiędzy zwiększoną umieralnością a niskim statusem socjoekonomicznym chorych z CF [33]. Takie czynniki środowiskowe jak narażenie na dym tytoniowy, inne zanieczyszczenia jak również stres, determinują przebieg kliniczny choroby i związaną z nim długość życia [35]. Jednym z najbardziej istotnych czynników środowiskowych jest sposób odżywiania się pacjenta, a co za tym idzie stan jego odżywienia, który istotnie wpływa na przebieg choroby płucnej i związaną z tym ściśle długość życia. Stan odżywienia u chorych z CF stanowi istotny czynnik prognostyczny przebiegu choroby. Zły stan odżywienia koreluje ze złym rokowaniem, co do przebiegu choroby [36].

1.1.4. Kryteria rozpoznania

Zgodnie ze stanowiskiem Polskiej Grupy Roboczej przy Zarządzie Głównym Polskiego Towarzystwa Pediatrycznego [33] podejrzenie mukowiscydozy opiera się na podstawie stwierdzenia:

1. przynajmniej jednego objawu klinicznego występującego w chorobie (tabela 1), lub
2. obciążającego wywiadu rodzinnego (występowanie CF u rodziców lub/i u rodzeństwa), lub
3. dodatniego wyniku badania przesiewowego noworodków w kierunku mukowiscydozy.

Wstępne rozpoznanie należy potwierdzić jednym z badań wykrywających zaburzenia genu CFTR.

- testem potowym, wykazującym znamienne wysokie wartości chlorków w pocie (Cl > 60mmol/l), w co najmniej dwóch odrębnie wykonanych badaniach,
- wykryciem mutacji w genie CFTR w obu allelach,
- wysokimi wartościami przeznabłonkowej różnicy potencjałów, typowe dla chorych z CF są bardziej ujemne wartości przeznabłonkowej różnicy potencjałów oraz istotna zmiana po podaniu amilorydu (stają się mniej ujemne) w przeciwieństwie do osób zdrowych.

Tabela 1 Najczęstsze objawy kliniczne występujące u chorych z CF w zależności od wieku [37]

Okres płodowy i noworodkowy	Okres niemowlęcy i poniemowlęcy	Okres dzieciństwa i dorosłości
• zwapnienia w jamie otrzewnowej płodu • poszerzenie jelita cienkiego płodu w badaniu USG • niedrożność smółkowa • przedłużająca się cholestaza wewnątrzwątrobowa	• niedobór masy ciała • przewlekły kaszel • nawracające zapalenie płuc, oskrzelików • astma wczesnodziecięca • przewlekłe zakażenie dróg oddechowych *Pseudomonas aeruginosa* i/lub *Staphylococcus aureus* • zmiany w RTG płuc – nawracająca niedodma, rozdęcie • bardzo słony pot • odwodnienie z hipokaliemią i hiponatremią i zasadowicą hipochloremiczną (rzekomy zespół Barttera) • zapaść podczas upałów • cuchnące, tłuszczowe, obfite stolce • objawy zespołu złego wchłaniania • wypadanie błony śluzowej odbytnicy • objawy niedoboru witamin rozpuszczalnych w tłuszczach • hipoprotrombinemia • hipoproteinemia i obrzęki	• przewlekły kaszel • nawracające zapalenia płuc • polipy nosa • przewlekłe zapalenie zatok obocznych nosa • rozstrzenie oskrzeli • palce pałeczkowate • krwioplucie • marskość żółciowa wątroby • kamica żółciowa u dzieci • nadciśnienie wrotne, żylaki przełyku, splenomegalia • nawracające zapalenie trzustki • cukrzyca • niedobór wzrostu i masy ciała • nawracające obrzęki ślinianek przyusznych • opóźnione dojrzewanie płciowe • niepłodność mężczyzn (azoospermia obstrukcyjna)

1.1.5. Objawy kliniczne mukowiscydozy

1.1.5.1. Objawy ze strony układu oddechowego

Typowym objawem przewlekłej choroby oskrzelowo - płucnej w przebiegu CF jest przewlekły, napadowy kaszel, głównie rano. Kaszel początkowo suchy, w miarę upływu czasu zmienia się w wilgotny. Związane jest to z zaburzonym transportem jonów w komórkach wydzielniczych, który stoi u podstawy etiopatogenezy choroby. W efekcie czego, w drogach oddechowych pojawia się 30 - 60 razy bardziej gęsty i lepki niż normalnie śluz. Gromadząc się w drogach oddechowych prowadzi do zmniejszenia drożności dróg oddechowych z wytworzeniem zmian rozedmowo - niedodomowych. Zalegająca wydzielina drzewa oskrzelowego staje się niezwykle korzystnym podłożem do kolonizacji i wzrostu bakterii. Najczęściej stwierdzanymi drobnoustrojami chorobotwórczymi izolowanymi z plwociny pacjentów są: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia, Haemophilus influenzae*. Początkowo następuje kolonizacja przez *Staphylococcus aureus i Haemophilus influenzae*, później przez *Pseudomonas aeruginosa* oraz *Burkholderia cepacia* [38]. Dochodzi do zapalenia oskrzelików,

rozwinięcia się przewlekłego, ropnego procesu zapalnego, następnie zwłóknienia tkanki płucnej. W bardziej zaawansowanych przypadkach może to doprowadzić do wytworzenia nadciśnienia płucnego, a w konsekwencji tego, do prawokomorowej niewydolności serca [39], która wraz z krwiopluciem, odmą opłucnową są późnymi powikłaniami choroby i świadczą o znacznej destrukcji płuc. Wraz z progresją choroby obniżają się dolne granice płuc, klatka piersiowa przyjmuje kształt beczkowaty, a palce rąk wygląd pałeczkowaty [40].

Choroba dotyczy początkowo tylko najdrobniejszych oskrzelików, następnie również oskrzeli o większej średnicy. Badania histologiczne płuc wykazują, że najcięższe zmiany są zlokalizowane w oskrzelikach o średnicy poniżej 2 mm, w których początkowo stwierdza się zapalenie ropne, następnie zwężające, a na końcu zarostowe. Wskutek szerzenia się zakażenia i gromadzenia się śluzu dochodzi do niszczenia ścian oskrzeli segmentowych i płatowych. Chorzy demonstrują również nawracające stany obturacji oskrzeli, przebiegające z dusznością. Badanie spirometryczne wykazuje początkowo typowy obraz zaburzeń wentylacji typu obturacyjnego, ze zwiększaniem się objętości zalegającej i czynnościowej pojemności zalegającej w czasie. Natomiast zmiany restrykcyjne świadczą o znacznym uszkodzeniu płuc i są późnym objawem choroby. Obniżenie wartości FEV_1 do 30% wartości należnej, u chorego z CF zmniejszają szanse dwuletniego przeżycia do 50% [41]. Zgony pacjentów, pomimo wielonarządowego charakteru choroby, najczęściej, bo w 95% są spowodowane uszkodzenia płuc [42], [43].

W podobnym patomechanizmie powstają przewlekłe zmiany zapalne w górnych drogach oddechowych. Na skutek zalegania nieprawidłowego, nadmiernie gęstego śluzu w rejonie kompleksu ujściowo - przewodowego, dochodzi do zaburzenia drenażu zatok obocznych nosa. Zaburzenia transportu śluzowo - rzęskowego w tym rejonie powodują rozwój zmian zapalnych w zatokach, które sprzyjają również powstawaniu polipów nosa [44], [45]. W konsekwencji przewlekłego procesu zapalnego błony śluzowej nosa i zatok przynosowych, dochodzi do zaburzenia fizjologicznego toru oddychania. Wskutek czego pogłębia się tzw. deficyt tlenowy, istniejący już na skutek przewlekłych zmian obturacyjnych w dolnych drogach oddechowych [46]. A spływająca, zapalna wydzielina z zatok przynosowych jest źródłem nawracających infekcji oskrzelowo - płucnych. Świadczy o tym podobna flora bakteryjna w wydzielinie zapalnej z zatok obocznych nosa, jak i drzewa oskrzelowego. W ponad 30% chorych z CF stwierdza się brak rozwoju zatok czołowych z powodu ich niedostatecznego upowietrznienia [47]. Charakterystyczne są deformacje twarzy, w postaci poszerzenia nasady nosa, zmniejszenia światła nozdrzy. Zmiany te są spowodowane stałym uciskiem dużej ilości gęstego śluzu na cienkościenne komórki sitowia. W dość rzadkich przypadkach, gdy u chorych z CF nie ma objawów przewlekłego zapalenia zatok, wtedy choroba może dotyczyć głównie układu pokarmowego [47].

1.1.5.2. Objawy ze strony układu pokarmowego

Prawie wszystkie narządy przewodu pokarmowego są objęte procesem chorobowym w przebiegu CF. Zaburzeniu ulegają trzy podstawowe czynności układu pokarmowego: wydzielanie, wchłanianie i motoryka. Objawy ze strony przewodu pokarmowego można podzielić w zależności od częstości występowania [48]: niedożywienie (85%), chorobę refluksową przełyku (26 - 80%) wypadanie odbytu (20%), ekwiwalenty niedrożności smółkowej (ang. DIOS – distal intestinal obstruction syndrome) (16%) oraz niedrożność smółkową (6 - 20%). Zaburzony transport jonów ogranicza w kilku mechanizmach, przepływ wody do światła przewodów w układzie pokarmowym [49]. Najwcześniej ujawniającym się objawem jest niedrożność smółkowa (*meconium ileus*), występuje w następstwie zaczopowania końcowego odcinka jelita krętego zagęszczoną smółką [50], [51]. Objawy niedrożności smółkowej w postaci wzdęcia brzucha, nieoddania smółki, wymiotów treścią żółciową i ogólnego pogorszenia stanu ogólnego noworodka, mogą wystąpić w pierwszych 24 - 48 godzinach życia dziecka [40]. Następstwem niedrożności smółkowej może być atrezja jelita cienkiego, skręt jelit lub smółkowe zapalenie otrzewnej [51]. Również w okresie ponoworodkowym niedrożność jelit występuję w wysokim odsetku chorych na CF (10 - 20%), jako skutek wydzielania nadmiernie lepkiego śluzu, obniżenia pH w jelicie cienkim i zwolnionej perystaltyki jelit [40]. U 20% chorych choroba manifestuje się wypadaniem odbytu, diagnozowanego pomiędzy 6 i 36 miesiącem życia dziecka. Powstaje wskutek zmniejszenia napięcia zwieracza odbytu, uporczywego kaszlu, biegunek oraz rozdęcia odbytnicy przez masy kałowe w następstwie długotrwałych zaparć u części dzieci.

- **Trzustka**

Najczęściej zajętym organem przewodu pokarmowego jest trzustka, w której zmniejszenie wydzielania płynów i dwuwęglanów powoduje czopowanie przewodów gęstą wydzieliną, co z czasem prowadzi do zastępowania przez tkankę tłuszczową i włóknistą prawidłowego jej miąższu. Wskutek utraty zewnątrzwydzielniczej funkcji zwłaszcza lipo - i proteolitycznej dochodzi do zaburzeń trawienia i wchłaniania poszczególnych składników pokarmowych. U części pacjentów mających wydolną trzustkę w chwili rozpoznania, może dojść do utraty jej funkcji zewnątrzwydzielniczej w trakcie trwania choroby [52]. U około 85 - 90% chorych z CF niewydolność trzustki objawia się w postaci biegunki tłuszczowej. Stolce są liczne, obfite, cuchnące, zawierające niestrawione resztki pokarmowe. Proces chorobowy, który pierwotnie przebiega w miąższu trzustki może wtórnie, wskutek jej stłuszczenia i włóknienia prowadzić do uszkodzenia części endokrynnej i rozwoju początkowo nietolerancji glukozy, a następnie cukrzycy (ang. CFRD – cystic fibrosis related diabetes) [53]. Objawowe zapalenie trzustki jest rzadkim powikłaniem związanym z CF [54].

- **Wątroba i drogi żółciowe**

Choroba wątroby i dróg żółciowych należy do wczesnych powikłań mukowiscydozy, u większości pacjentów ujawnia się w dzieciństwie lub we wczesnej młodości. Pierwszym objawem może być przedłużająca się żółtaczka noworodków, wywołana obturacją przewodów żółciowych zalegającym, zagęszczonym i odwodnionym śluzem wewnątrzwątrobowych przewodach żółciowych [55]. Zmiany w wątrobie związane są z nieprawidłową funkcją białka CFTR zlokalizowanego w błonie szczytowej komórek wewnątrzwątrobowych przewodów żółciowych. Zagęszczona żółć czopuje przewody, doprowadzając do ogniskowego włóknienia, a następnie ogniskowej i wielozrazikowej marskości wątroby. Przewlekła cholestaza prowadzi do rozwoju żółciowej marskości choroby, która występuje u 25% chorych na mukowiscydozę, jednak objawy kliniczne występują jedynie u 2 - 5%. Natomiast obserwowana hepatomegalia i zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych w surowicy spowodowane są czynnikami zewnątrzwątrobowymi, między innymi insulinoopornością oraz obecnością cytokin prozapalnych [56]. Zaawansowana choroba wątroby, w postaci niewydolności tego narządu, prowadzi do powstania nadciśnienia w układzie wrotnym z następowym krwawieniem z żylaków przełyku [57], [58]. Obok funkcji płuc i stanu odżywienia, funkcja wątroby jest niezależnym czynnikiem ryzyka przedwczesnej umieralności chorych z CF [59]. U 30% chorych z mukowiscydozą stwierdza się mały pęcherzyk żółciowy lub istnieją problemy z jego uwidocznieniem w badaniach obrazowych. Kamicę pęcherzyka żółciowego obserwuje się u 20 - 25% chorych z CF, z częstością rosnącą wraz z wiekiem. W konsekwencji kamica, może doprowadzić do ostrego zapalenia pęcherzyka lub dróg żółciowych, zapalenia trzustki, a niekiedy ropniaka pęcherzyka [60].

- **Zaburzenia czynnościowe przewodu pokarmowego**

Do zaburzeń czynności przewodu pokarmowego w przebiegu mukowiscydozy zaliczamy ekwiwalenty niedrożności smółkowej i refluks żołądkowo-przełykowy.

Z wiekiem chorych zwiększa się częstość występowania ekwiwalentów niedrożności smółkowej – zespołu DIOS, który objawia się kurczowymi bólami brzucha, obecnością miękkiego guza w prawym podbrzuszu, a radiologicznie – cechami zalegania mas kałowych. Do powstawania tego zespołu przyczyniają się: niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki [61], zaburzony transport elektrolitów i płynów przez ścianę jelit [62], [63] oraz nieprawidłowa ich motoryka [63]. DIOS może wystąpić w każdym wieku po okresie noworodkowym, natomiast najczęściej występuje w okresie dojrzewania i u dorosłych chorych z CF. U pacjentów poniżej 5. roku życia występuję u 2% pacjentów, natomiast po 30. roku życia jego częstość wzrasta do 27% [64]. W rzadkich przypadkach zespół DIOS, który należy różnicować z zaparciem, zapaleniem wyrostka robaczkowego, wgłobieniem, kolonopatią włókniejąca i nieswoistymi zapaleniami jelit, może być pierwszym objawem mukowiscydozy [65].

Wsteczny odpływ żołądkowo - przełykowy występuje u chorych z mukowiscydozą znacznie częściej niż w ogólnej populacji. Jest obserwowany u 25% chorych z CF powyżej 10. roku życia. Spowodowany jest głównie przez niewydolność dolnego zwieracza przełyku, zwiększony przeponowy gradient stężeń, opóźnione opróżnianie żołądka oraz osłabienie odnóg przepony, które przeciwdziałają odpływowi treści z żołądka do przełyku [66]. Wsteczny odpływ żołądkowo - przełykowy jest najczęściej bezobjawowy, niekiedy objawia się zgagą lub zarzucaniem kwaśnej treści do jamy ustnej [67].

1.1.5.3. Objawy z innych narządów

U 90% chorych z CF obserwuje się przejściowe zwiększenie objętości ślinianek, zwłaszcza podżuchwowych, w większości przypadków niewymagające leczenia. W nielicznych przypadkach przyczyną obrzęku może być kamica przewodu ślinowego ze wskazaniem do leczenia chirurgicznego [66].

W późnym okresie rozwoju płodowego u płci męskiej z CF powstaje niedrożność nasieniowodów, prowadząca u około 95 - 98% mężczyzn do obturacyjnej azoospermii i niepłodności [68], [69]. Najczęściej obserwuje się obustronny niedorozwój nasieniowodów.

U płci żeńskiej chorującej na mukowiscydozę, rozwojowo prawidłowa budowa anatomiczna układu rozrodczego nie warunkuje zajścia w ciążę. Dzieje się to z powodu utrudnionej penetracji plemników w nadmiernie lepkim i gęstym śluzie szyjkowym. Opóźnienie dojrzewania płciowego, a także niepłodność kobiet z CF może również być spowodowana ciężką, obturacyjną chorobą płuc, niedożywieniem bądź cukrzycą [70].

Wśród innych problemów zdrowotnych pacjentów z CF wymienia się: osteoporozę, artropatię i zapalenie naczyń [71], [72].

1.1.5.4. Badania diagnostyczne w mukowiscydozie

Do oceny funkcji płuc i zaawansowania choroby oskrzelowo - płucnej stosuje się badania spirometryczne i bronchoskopowe, badania mikrobiologiczne (posiewy plwociny) oraz badania obrazowe (tomografia komputerowa płuc i zatok). Do rutynowych badań oceniających zaawansowanie choroby w obrębie przewodu pokarmowego, należy badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej i badania biochemiczne (aktywność enzymów wątrobowych, stężenie albumin i białka całkowitego, parametry koagulologiczne). Oceny czynności zewnątrzwydzielniczej trzustki dokonuje się na podstawie pomiaru stężenia elastazy-1 w próbce kału oraz oznaczenia wydalania tłuszczu w 72-godzinnej zbiórce stolca [73]. To ostatnie badanie służy również do monitorowania skuteczności suplementacji enzymatycznej. W diagnostyce zaburzeń czynnościowych przewodu pokarmowego używana jest 24-godzinna pH-metria, pH-impedancja oraz manometria przełyku, wykonywane są również zdjęcia radiologiczne jamy brzusznej z kontrastem.

1.2. Ocena stanu odżywienia

Biorąc pod uwagę, że wykazano, iż stan odżywienia u chorych z CF jest istotnym czynnikiem prognostycznym przebiegu choroby, w tym zachowania wydolności oddechowej, istotne jest zwrócenie uwagi na prawidłowo przeprowadzoną ocenę stanu odżywienia u dzieci z CF [36]. Stan odżywienia jest wykładnikiem spożycia żywności, procesu trawienia, wchłaniania i wykorzystywania składników odżywczych diety oraz działania czynników biologicznych i fizycznych otoczenia [74]. Ocena stanu odżywienia, pomimo wielu dostępnych metod, w dalszym ciągu sprawia wiele problemów w populacji dziecięcej. Ocena ta musi uwzględniać wiek dziecka, sytuację kliniczną, musi odnosić się także do populacji dzieci zdrowych. Tym większy problem stanowi ocena stanu odżywienia w grupie dzieci chorych z mukowiscydozą, gdzie wynik może być zafałszowany zmianami składu ciała, wpływem leczenia czy zaburzonymi proporcjami rozwoju dziecięcego organizmu. Dla wielu metod oceny stanu odżywienia brakuje wciąż norm populacyjnych dla dzieci i nie wszystkie metody mogą być bezpośrednio stosowane do oceny stanu odżywienia. Jest jednak wiadome, że systematyczna ocena stanu odżywienia u dzieci chorych z mukowiscydozą pozwala na odpowiednio wczesne wykrycie zaburzeń i wdrożenie właściwego postępowania profilaktycznego lub leczniczego. Dzieci chorujące na mukowiscydozę ze względu na specyfikę choroby wymagają pogłębionej oceny stanu odżywienia przy użyciu metod antropometrycznych, bioimpedancji, badań biochemicznych. Przeprowadzenie prawidłowej oceny stanu odżywienia wymaga analizy stanu klinicznego (zebranie wywiadu, przeprowadzenie badania fizykalnego, ale również ocena wydolności oddechowej) oraz oceny dietetycznej zarówno jakościowej i ilościowej, zawierającej bilans żywieniowy [75].

1.2.1. Badania antropometryczne

W sposób szybki, bezinwazyjny, bezbolesny, tani i nieuciążliwy dla pacjenta umożliwiają ocenę poziomu jego rozwoju somatycznego, proporcji i budowy ciała, stopnia rozwoju tkanek miękkich, głównie tkanki tłuszczowej, ale również i tkanki mięśniowej za pomocą odpowiednich wzorów. W klinice pediatrycznej pomiary antropometryczne mają na celu identyfikację zaburzeń stanu odżywienia, przez które rozumiemy zarówno niedostateczne wzrastanie z niedoborami masy ciała i wzrostu, jak i nadmierne przyrosty masy ciała.

Do wstępnej oceny rozwoju somatycznego poleca się wykorzystywanie zestawu czterech pomiarów antropometrycznych:

- masa ciała,
- wysokość ciała (u niemowląt i dzieci niestojących – długość ciała),
- obwód głowy,
- obwód klatki piersiowej.

Ocena proporcji masy do długości/wysokości ciała jest podstawowym wskaźnikiem charakteryzującym stan odżywienia. W ocenie tej proporcji bardzo pomocne są ilorazowe wskaźniki wzrostowo - wagowe, z których najczęściej stosowany jest wskaźnik względnej masy ciała BMI. Stosowanie wskaźników bądź norm dwucechowych bywa często metodą czulszą, pozwalającą wychwycić nieprawidłowości rozwoju.

Najczęściej stosowane wskaźniki wagowo-wzrostowe:

- **indeks masy ciała:**

BMI – M/L^2, M – masa ciała w kilogramach, L – wysokość w metrach

Zaletą wskaźnika BMI są proste obliczenia, z łatwo dostępnych danych. Bezwzględna wartość wskaźnika BMI nie informuje jednak o składzie ciała. Pacjent z wysokim BMI może mieć dużo tkanki tłuszczowej lub mięśniowej. Dodatkowo wykorzystując dany parametr w badaniach dzieci należy pamiętać, iż jego wartości zmieniają się wraz z wiekiem i są zależne od płci. Dlatego też do określenia niedoboru, nadmiaru lub prawidłowej masy ciała, konieczne jest posługiwanie się siatkami centylowymi BMI dla płci i wieku, w celu porównania wyników z normami rozwojowymi [76][77].

Według publikacji Instytutu Matki i Dziecka z 2001 roku [78] stan odżywienia dzieci w wieku od 4 do 18 lat oceniamy według BMI wyrażonego w percentylach:

BMI ≤ 10 centyl – niedowaga

BMI 10 - 90 centyl – norma

BMI 90 - 96,9 centyl – nadwaga

BMI ≥ 97 centyl – otyłość

Na podstawie opinii ekspertów reprezentujących wiodące ośrodki naukowe w zakresie antropologii i pediatrii, jako obowiązujące dla dzieci od urodzenia do 19 roku życia uznano siatki centylowe BMI opublikowane przez WHO [79], [80]. A stan odżywienia oceniamy według następujących punktów odcięcia:

BMI ≤ 3 centyl – znaczny niedobór masy ciała – niedożywienie

BMI 3 - 15 centyl – niedobór masy ciała

BMI 15 - 85 centyl – norma

BMI 85 - 97 centyl – nadwaga

BMI ≥ 97 centyl – otyłość

1.2.2. Ocena składu ciała

Do oceny składu ciała wyżej wymienione 4 podstawowe cechy antropometryczne uzupełnia się pomiarem obwodów i grubości fałdów skórno - tłuszczowych w określonych miejscach ciała. Najczęściej wykorzystuje się obwód ramienia, uda, rzadziej bioder i brzucha. Obwód ramienia, mierzony w środkowej jego części jest wskaźnikiem czułym i silnie skorelowanym z ilością tkanki tłuszczowej. Techniki pomiaru składu ciała opierają się na założeniu, że organizm ludzki składa się z tłuszczowej i tzw. beztłuszczowej masy ciała.

Pomiar fałdów tłuszczowych, który zakłada, że średnia grubość fałdów skórnych w wybranych miejscach jest odzwierciedleniem wartości podskórnej masy tłuszczowej, natomiast grubość podskórnej masy tłuszczowej odzwierciedla stały odsetek całkowitej masy tłuszczowej organizmu, odbywa się przy pomocy fałdomierzy (kaliperów). Fałdomierze wywierają stały nacisk na mierzoną tkankę podskórną.

Najczęściej mierzone i polecane są cztery fałdy: nad mięśniem trójgłowym, dwugłowym, pod łopatką i nad grzebieniem biodrowym. Pomiary dokonywane są trzykrotnie w każdym z miejsc, po czym oblicza się średnią wartość pomiaru w każdym z nich.

Bardzo ważne w ocenie składu ciała jest również ocena metodami antropometrycznymi beztłuszczowej masy ciała. Dobrym wskaźnikiem rozwoju tej komponenty ciała jest obwód mięśni ramienia obliczany ze wzoru Frisancho na podstawie pomiarów obwodu ramienia i grubości fałdu skórno - tłuszczowego na ramieniu.

Obwód mięśnia ramienia (cm) =

obwód ramienia (cm) – [π x grubość fałdu skórno-tłuszczowego na ramieniu (mm)]

Uzyskane z pomiarów dane, zarówno pojedynczych cech jak również obliczanych wskaźników, porównuje się z normami cech somatometrycznych opracowanych w postaci siatek centylowych lub tablic liczbowych [78].

Ocena stanu odżywienia jest szczególnie złożona ze względu na zmienny przebieg torów rozwoju i wzrastania poszczególnych komponent ciała – tłuszczowej, kostnej i mięśniowej, w przebiegu ontogenezy. Proporcje poszczególnych komponent zmieniają się w sposób naturalny w przebiegu ontogenezy, ale zmieniają się również w zależności od stanu zdrowia. [75]. W ontogenezie obserwuje się fizjologiczne zmiany zarówno całkowitej ilości, jak i procentowej zawartości tkanki tłuszczowej w organizmie ludzkim, a także zmiany jej rozmieszczenia. Najlepiej znane są zmiany podskórnej tkanki tłuszczowej, którą najłatwiej jest obserwować. Zawartość tzw. głębokiej tkanki tłuszczowej jest trudna do oszacowania bez zastosowania bardziej skomplikowanych metod badania [81].

Do metod najczęściej stosowanych w praktyce do pomiaru zawartości tkanki tłuszczowej (%FM) oraz beztłuszczowej masy ciała (%FFM), należą – metoda bioimpedancji oraz DXA (dual energy X ray absorptiometry) [82].

- **Bioimpedancja (BIA – bioelektryczna analiza bioimpedancji)**

Metoda impedancji bioelektrycznej opiera się na pomiarze oporów w przepływie prądu elektrycznego przez komponentę tłuszczową i wodną ciała pacjenta. Metoda pozwala w sposób pośredni obliczyć całkowitą wodę organizmu, beztłuszczową i tłuszczową masę ciała [82], [83]. Jest to badanie nieinwazyjne, czas trwania wynosi od kilku sekund do kilku minut z zależności od aparatów, które mogą działać w zakresie jednej lub wielu częstotliwości. Ze względu na łatwą dostępność, możliwość powtarzania pomiarów, szybkość metody i niski koszt badania wielu autorów uważa tą metodę badania za idealną w ocenie składu ciała, również w zastosowaniu u dzieci. Może być zastosowana z sukcesem u różnych grup pacjentów, w tym także niedożywionych. Zaletą tej metody jest również niski błąd powtarzalności (3,5 - 4%) [84]. Jakkolwiek wielu autorów wskazuje również na liczne wady tej metody. Istnieje możliwość przeszacowania lub niedoszacowania zawartości tkanki tłuszczowej w systemach ręcznych, gdzie pomiar dotyczy górnej połowy ciała. Wskutek wahań zawartości wody w organizmie w zależności od pory dnia, aktywności fizycznej, ilości spożytej wody i cyklu menstruacyjnego u płci żeńskiej wyniki badania mogą być zmienione [84]. Inne czynniki, które mogą wpływać na wynik badania, to rodzaj i sposób zastosowanych elektrod, temperatura i pozycja ciała. Mimo to, porównywalne wyniki bioimpedancji z innymi uznanymi metodami oceny składu ciała (w tym DXA oraz metoda izotopowa ze znakowanym potasem do oceny całkowitej wody ciała) pozwalają sądzić, że metoda ta stanie się metodą powszechnie stosowaną do oceny składu ciała również u dzieci z mukowiscydozą [85], [86].

- **Metoda podwójnej absorpcji promieniowania X (DXA; ang. dual energy X-ray absorptiometry)**

Metoda ta początkowo została wykorzystana do oceny gęstości kości, jednak z czasem jej możliwości rozwinęły się i można jej aktualnie używać do oceny tłuszczowej oraz beztłuszczowej masy ciała. Badanie jest proste, trwa około 10 minut, dawka napromieniowania jest relatywnie niska (10 krotnie niższa w porównaniu do badania tomokomputerowego), powtarzalność metody bardzo wysoka, a błąd pomiaru nieduży wynoszący jedynie śr. 1,5% dla beztłuszczowej masy ciała [87].

Metoda pozwala określić trzy komponenty budujące ciało człowieka podczas jednego badania: tkanki kostnej, mięśniowej i tłuszczowej oraz jej poszczególne rodzaje, w tym tłuszcz

trzewny i podskórny, zarówno na poziomie całego organizmu, jak i wybranych regionach (kończyny, tułów). W wyniku badania dokonywane są następujące pomiary: gęstość tkanki kostnej, masa tkanki kostnej, masa tkanki mięśniowej, masa tkanki tłuszczowej (FM – Fat Mass) i jej procentowy udział w całkowitej masie ciała (%FM) oraz masa odpowiednika tkanki beztłuszczowej (FFM).

Metoda ta ma również niedoskonałości, między innymi w postaci braku możliwości oceny zawartość wody w organizmie, ale mimo to metoda DXA jest metodą referencyjną w ocenie składu ciała zarówno u dorosłych jak i u dzieci [82]. Metoda ta jednak nie jest powszechnie stosowana ze względu na konieczność dysponowania odpowiednim sprzętem oraz kosztem badania.

1.2.3. Biochemiczne wskaźniki stanu odżywienia

Jak do tej pory nie opracowano wiarygodnego markera biochemicznego pozwalającego ocenić stan odżywienia, jakkolwiek parametry biochemiczne mają wartość uzupełniającą w stosunku do pomiarów antropometrycznych i odnoszą się do niedoboru poszczególnych składników odżywczych. Pozwalają na wykrycie specyficznych niedoborów poszczególnych składników pokarmowych.

W praktyce klinicznej wykorzystuje się następujące parametry biochemiczne:

- poziom hemoglobiny i parametry opisujące erytrocyty (MCV, MCH, MCHC), stężenie żelaza i ferrytyny;
- stężenie witaminy A, C i E w surowicy;
- stężenie fosforu i 25(OH)D_3 w surowicy i współczynnik wapniowo-kreatyninowy w porcji moczu;
- czas protrombinowy, jako wykładnik niedoboru witaminy K;
- stężenie sodu, chloru, potasu, cynku, selenu i magnezu w surowicy.

Limfopenia i spadek proporcji CD4/CD8 mogą wiązać się z niedożywieniem, jednak nie służą w monitorowaniu skuteczności leczenia żywieniowego i nie są wykorzystywane u niemowląt poniżej 6 miesiąca życia.

Do oceny niedożywienia białkowo - kalorycznego proponuje się również analizę:

- stężenia białek trzewnych w tym:

- białko całkowite – ocena całkowitego stężenia białek osocza ma znaczenie ograniczone, ale ocena pewnych specyficznych białek może być pomocna w ocenie stanu odżywienia.
- albuminy – na stężenie albuminy może wpływać wiele różnych czynników, a jej poziom zależy nie tylko od ilości białka przyjmowanego w diecie. Niskie stężenie albuminy w surowicy może wiązać się z przewodnienia chorego, a wyniki wielu badań wskazują na

związek pomiędzy stężeniem albuminy, a stanem zapalnym [88]. Dodatkowo charakteryzuje ją stosunkowo długi czas półtrwania (ok. 20 dni) oraz duża pula ogólnoustrojowa zlokalizowana w 60% zewnątrznaczyniowo. Cechy te powodują, że w stanach ograniczonej podaży kaloryczno - białkowej stężenie albuminy w surowicy krwi pozostaje niezmienione przez relatywnie długi czas [89].

- transferyna była wykorzystywana w ocenie stanu odżywienia, ale nie jest dobrym wskaźnikiem niedożywienia. Jej stężenie ma związek z gospodarką żelazową oraz stanem zapalnym, co utrudnia jednoznaczną ocenę wyników. Stężenie transferyny w surowicy jest w większym stopniu zależne od podaży białka, a mniej od dowozu kalorii [90].
- prealbuminy i białko wiążące retinol (RBP) to białka o stosunkowo krótkim okresie półtrwania, mogą być pośrednim wykładnikiem niedożywienia i realimentacji, jakkolwiek charakteryzują się stosunkowo niską czułością i swoistością.
- insulinopodobny czynnik wzrostu – 1 (IGF-1) jest jednym z ostatnio proponowanych parametrów opisujących niedożywienie [91]. Jest najbardziej obiecującym pod kątem oceny stanu odżywienia szczególnie w przypadku niedożywienia. Jego stężenie ulega szybkiej normalizacji po realimentacji. IGF-1 wpływa na wiele procesów życiowych, między innymi na procesy wzrastania organizmu, poprzez bezpośrednie oddziaływanie na chrząstkę wzrostową. Współdziała w regulacji wydzielania hormonu wzrostu na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego [92]. IGF-1 jest ważnym anabolicznym hormonem, który zmniejsza katabolizm białek, ogranicza glukoneogenezę i ketogenezę, jak również stymuluje tkanki do wykorzystania glukozy [93]. Jednak zwraca się uwagę na ograniczoną wartość wyników oznaczeń IGF-1 w ocenie stanu niedożywienia. Ponieważ produkcja IGF-1 jest uzależniona od wielu czynników takich jak: rytm dobowy, czynników genetycznych, niedostatecznego leczenia niektórych schorzeń (np. cukrzyca, choroby wątroby, niedoczynność tarczycy), ciężkich medycznych powikłań (np. urazy wielonarządowe, zabiegi operacyjne, schorzenia układowe), kliniczne zastosowanie IGF-1, jako markera niedożywienia wymaga dalszych badań [94].

- białko C-reaktywne (CRP) nie jest wskaźnikiem stanu odżywienia. Będąc jednak białkiem ostrej fazy sygnalizuje zwiększone zapotrzebowanie białkowo - energetyczne oraz ryzyko niedożywienia. W stanie ostrej fazy następuje spowolnienie syntezy wszystkich dotychczas wymienionych białek wskaźnikowych, niezależnie od pokrycia zapotrzebowania energetyczno - białkowego organizmu. Dlatego też przy wysokim poziomie CRP, inne białka jak transferyna, prealbumina, białko wiążące retinol tracą swoje funkcje wskaźnikowe stanu odżywienia.
- inne białka indykatorowe stanu odżywienia w tym fibronektyna są niezmiernie rzadko

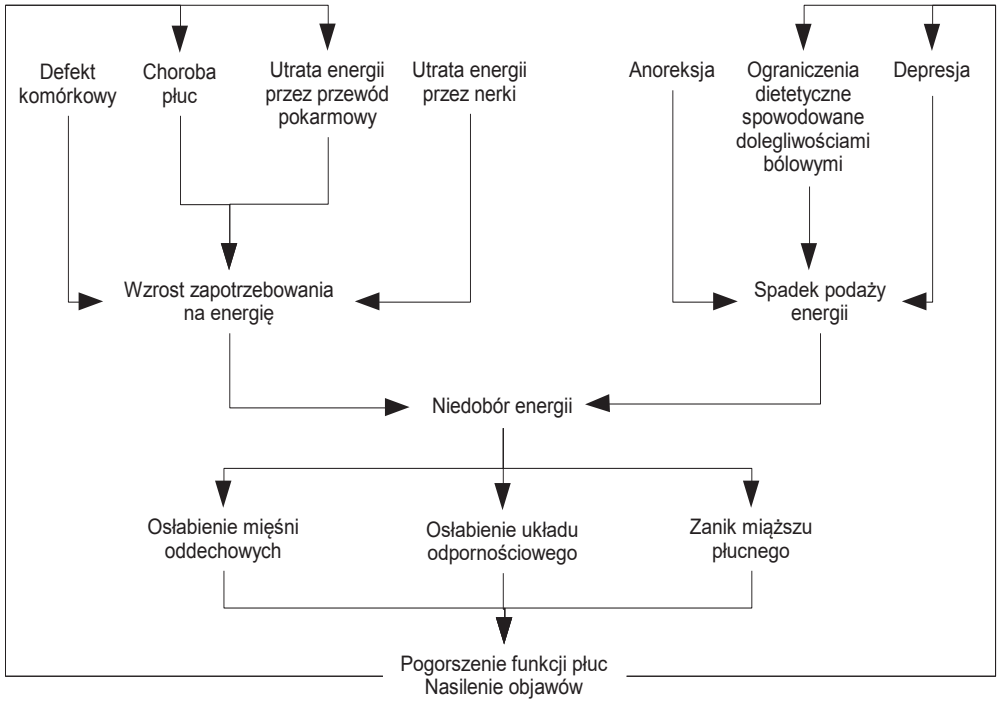
wykorzystywane w praktyce klinicznej.

- stężenie endo i egzogennych aminokwasów
- stężenie cholesterolu

1.3. Stan odżywienia w mukowiscydozie

1.3.1. Przyczyny zaburzeń odżywienia u dzieci z mukowiscydozą

Zaburzenia odżywiania w tym niedożywienie w przebiegu mukowiscydozy ma niezwykle złożoną etiologię, opisywana przez badaczy, jako „mechanizm błędnego koła" [36]. Przyczyną niedożywienia w mukowiscydozie jest niedobór niezbędnej energii spowodowanej z jednej strony spadkiem podaży energii, a wzrostem zapotrzebowania na energię z drugiej strony, spowodowanym nieprawidłowym wchłanianiem i znacznie zwiększonym wydatkiem energetycznym [Ryc. 1].



Rycina 1 Mechanizm błędnego koła zaburzeń energetycznych w mukowiscydozie, opracowanie własne na podstawie źródła [95]

Zmiany oskrzelowo-płucne prowadzą do zwiększenia pracy mięśni oddechowych, a co za tym idzie zwiększonego wydatku energetycznego, a jednocześnie dochodzi do wzrostu jelitowej i nerkowej utraty energii [36], [96]. Wykazano, że osoby z chorobami płuc o średnim i ciężkim nasileniu wykazują niedobory żywieniowe, co prowadziło do hipotezy, że choroby płuc o tym stopniu nasilenia, uszkadzające mechanikę układu oddechowego powodują wzrost wysiłku oddechowego, zapotrzebowania na tlen i energię, co w efekcie prowadzi do utraty masy ciała. Ujemny bilans energetyczny uznano za jedną z przyczyn spadku masy ciała w wyniku zaburzonej równowagi pomiędzy wydatkiem energetycznym, a ilością spożywanych pokarmów [97], [98].

Dodatkowo u chorych z CF obserwuje się występowanie zwiększonego spoczynkowego wydatku energetycznego. Ukazało się wiele prac podejmujących ten temat. W pracy Buchdahl'a i wsp. wykazano, że wydatek energetyczny w spoczynku u chorych z CF jest o 9% wyższy w zależności od masy ciała i 7% wyższy w zależności od masy mięśniowej, porównując odpowiednio z wynikami zdrowej grupy kontrolnej [99]. W innym badaniu O'Rawe i wsp. wysunęli hipotezę, iż przyczyną zwiększonego spoczynkowego wydatku energetycznego w CF może być defekt genetyczny [100].

Wykazano, że o 25% wzrasta wydatek energetyczny w spoczynku u homozygot najczęściej występującej mutacji (delF508) i o 10% u heterozygot z tą mutacją lub bez niej. Niestety, w badaniu tym nie wzięto pod uwagę zarówno stanu odżywienia, jak i wydolności oddechowej badanych pacjentów, które są ważne w ocenie spoczynkowego wydatku energetycznego. Wagę takiej analizy podnieśli już wcześniej inni autorzy wykazując, że u chorych z CF spoczynkowy wydatek energetyczny przekraczał normalne wartości, natomiast jego wzrost był związany z pogorszeniem się czynności płuc i odżywienia [101]. Zemel i wsp. wykazali, że znaczne zwiększenie spoczynkowego wydatku energetycznego u dzieci z mukowiscydozą jest zależne od płci i u dziewczynek jest istotnie wyższy niż u chłopców. Obserwowano również, że podstawowa przemiana materii może być pochodną beztłuszczowej masy ciała oraz długości/wysokości ciała [102]. Zwiększona wartość spoczynkowego wydatku energetycznego może być również spowodowana lekami używanymi w terapii u chorych z CF. Tak dzieje się przypadku stosowania wziewnej postaci salbutamolu, który spoczynkowy wydatek energetyczny o około 10% przez 3 godziny po podaży [103].

Niewystarczające wchłanianie przyjmowanych produktów odżywczych jest wynikiem znacznych zaburzeń trawienia u pacjentów z mukowiscydozą. Z drugiej strony występująca u większości pacjentów z CF zewnątrzwydzielnicza niedomoga trzustki prowadzi do zaburzeń trawienia białek i tłuszczów uwarunkowanego obniżeniem aktywności lipazy i trypsyny. Niedostateczne bądź brak wydzielania soku trzustkowego prowadzi również do zmniejszenia pH w dwunastnicy przez brak alkalizującego działania dwuwęglanów. Zbyt niskie pH obniża aktywność, wydzielanych i tak w zbyt małej ilości, lipazy i żółci [52]. Niewydolna sekrecja wątrobowa i niedrożność przewodów żółciowych, poza wpływem na trawienie, może prowadzić do powstania cholestazy, a w następstwie tłuszczowej przebudowy narządu zahamowaniu ulega produkcja, istotnych dla wielu procesów życiowych, lipoprotein [56]. Kolejne etapy trawienia i wchłaniania blokowane są przez gęsty śluz pokrywający, słabo przepuszczalną warstwą, nabłonek jelitowy utrudniając kolejne etapy trawienia, a następnie wchłaniania i tak słabo strawionych składników pokarmowych [104]. Wskutek zaburzeń trawienia i wchłaniania dochodzi do oddawania tłuszczowych stolców. Biegunki mogą być również spowodowane przewlekłą antybiotykoterapią a także wynikiem przerostu bakteryjnego w jelitach , obserwowanego u około

30% pacjentów z mukowiscydozą [105]. Kolejnym problem występującym u osób z CF i wpływającym na zmniejszoną podaż niezbędnych składników odżywczych są zaburzenia łaknienia spowodowane dysfagią oraz bólem.

Już w 1988 roku Kopelman i wsp. wykazali, iż jedną z przyczyn niepowodzenia leczenia żywieniowego chorych z CF może być nadmierne wydzielanie soku żołądkowego z równoczesnym zmniejszeniem wydzielania alkalizującego soku trzustkowego, przez co uwalnianie suplementowanych enzymów nie następuje w ogóle lub następuje ze zbyt dużym opóźnieniem [106]. Wskutek nadmiernego wydzielania soku żołądkowego może dojść do powstawania zapalenia błony śluzowej żołądka oraz wrzodów trawiennych, jak również towarzyszących objawów dyspeptycznych, a w następstwie zmniejszenia łaknienia [107]. Do zaburzeń w odżywianiu może przyczyniać się występowanie wstecznego odpływu żołądkowo - przełykowego, w tym zapalenie przełyku, który powoduje bóle w trakcie połykania, a co za tym idzie, niechęć do spożywania posiłków. Z kolei obecność zwężenia przełyku, które stanowi ciężkie powikłanie choroby refluksowej (GERD, ang. gastro-esophageal reflux disease) znacznie pogarsza stan odżywienia [108].

Na zaburzenia odżywiania wpływa również przewlekły proces zapalny. Wysokie stężenie cytokin w trakcie toczącego się procesu zapalnego, głównie IL-1, IL-8 oraz TNF-α przy jednoczesnym obniżeniu IL-10 hamującej proces zapalny, jako przyczyna depresji może być jedną z jego przyczyn [109].

Brak łaknienia obok depresji, jako jednej z przyczyn psychiatrycznych może występować w przebiegu jadłowstrętu psychicznego. Tak jak w populacji dzieci zdrowych choroba ta wynika z zaburzonego obrazu swojego ciała i chęci utrzymania niskiej wagi [110]. Dodatkowo wielokrotnie zaburzenia łaknienia spowodowane różnymi przyczynami często uniemożliwiają efektywne zastosowanie wysokokalorycznej diety.

Oprócz nieprzestrzegania zaleceń odnośnie stosowanej diety, zarówno ilościowych i jakościowych, obserwuje się również nieprzestrzeganie zaleceń w zakresie suplementacji enzymów [111]. Dodatkowo zazwyczaj podaż energetyczna pokarmów jest zbyt niska w stosunku do zwiększonego zapotrzebowania energetycznego spowodowanego zaburzeniami wchłaniania i wzrostem spoczynkowego wydatku energetycznego [36]. Zaburzenia odżywienia pogłębiane są również przez częste zakażenia i hospitalizacje.

1.3.2. Pogłębiona ocena stanu odżywienia u dzieci z mukowiscydozą

Ważnym czynnikiem prognostycznym przebiegu choroby oraz długości trwania życia chorego z mukowiscydozą stanowi ocena rozwoju fizycznego, przede wszystkim stanu odżywienia zarówno u dorosłych [112] jak i dzieci [86]. Stan odżywienia jest związany z czynnością płuc [113]. Niedożywienie jest czynnikiem rokowniczym przeżycia niezależnym od parametrów

czynnościowych płuc i parametrów gazometrycznych. Wiadomo, że zły stan odżywienia związany jest ze złym rokowaniem, co do przebiegu choroby [86]. Jak pokazało badanie 19,000 pacjentów z CF w Stanach Zjednoczonych (National Cystic Fibrosis Patient Registry), długość/wysokość ciała jest również ważnym czynnikiem rokowniczym przeżycia. Beker i wsp. wykazali, że u pacjentów poniżej 5 percentyla wysokości ryzyko zgonu wzrasta conajmniej 3-krotnie [86]. Zaobserwowano również, że utrata masy ciała jest czułym i niezależnym od czynności płuc i ciśnienia tętniczego wskaźnikiem zwiększonego ryzyka śmiertelności [112]. Niedożywienie, opóźnione wzrastanie i dojrzewanie składają się na złożony obraz choroby, jaką jest mukowiscydoza [114]–[117]. Wyniki badań dotyczące oceny rozwoju fizycznego chorych z CF w Polsce wskazują na istotne niedobory wysokości i masy ciała, zazwyczaj z przewagą deficytu masy ciała [114], [117], [118]. Istnieją też doniesienia o niedoborach wysokości i masy ciała, ale bez przewagi deficytu masy ciała, które świadczą o poprawie stanu odżywienia u dzieci z CF [119]. Jednak mimo próby poprawy stanu klinicznego u chorych z CF, w ciągu ostatnich 20 lat, wysokość ciała osiągnięta przez pacjentów z mukowiscydozą pozostała poniżej przeciętnej dla populacji, a problem niedowagi i opóźnionego rozwoju fizycznego istnieje nadal u dorosłych pacjentów z CF [114], [120]. Liczne badania długofalowe wykazały, że u dzieci z CF obserwuje się pulsacyjny model wzrastania. Niektóre z tych analiz wskazują na częste występowanie zmienności indywidualnej krzywej wzrastania u chorych z cięższą postacią choroby [121]. Z kolei w innych badaniach, autorzy wykazują, iż pulsacyjny rytm wzrastania pojawia się niezależnie od objawów klinicznych i prawdopodobnie jest to fizjologiczne wzrastanie pacjentów z CF. Nie wyklucza się jednak, że ciężkie objawy kliniczne mogą wpływać na opóźnienie faz wzrastania [122]. Dzieci z mukowiscydozą mają zaburzone proporcje wagowo - wzrostowe, co wykazano w badaniach prowadzonych w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie. Dzieci z mukowiscydozą w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami miały istotnie obniżoną wartość wskaźnika BMI, zmniejszony obwód ramienia i obwód mięśni ramienia, a także bardziej skąpą tkankę tłuszczową [123].

W piśmiennictwie podkreśla się również zaburzenia składu ciała u dzieci z CF. Można zaobserwować obniżenie beztłuszczowej masy ciała, czyli m.in. masy mięśniowej [124], nawet przy prawidłowym BMI [125].

Niedobór witamin rozpuszczalnych tłuszczach (A, D, E, K) jest typowy dla dzieci z CF i może wynikać ze zbyt małej podaży tych witamin w diecie, ale również może wiązać się z występowaniem u większości pacjentów niewydolności trzustki i wtórnie upośledzonym trawieniem tłuszczów, jak również uszkodzeniem wątroby u wielu pacjentów [126][127].

Niskie stężenie witaminy A (retinolu) w surowicy u chorych z CF jest związane z gorszym stanem klinicznym i pogorszeniem funkcji płuc [128]. Jednakże jej rola w układzie immunologicznym lub też innej specyficznej funkcji jest nadal niejasna. Stężenie we krwi

prekursora witaminy A – β-karotenu mającego właściwości antyoksydacyjne, jest obniżone praktycznie u wszystkich pacjentów z niewydolnością trzustki [128]. Suplementacja enzymów trzustkowych u tych chorych wpływa na normalizacje stężenia witaminy A w surowicy. W celu wyjaśnienia przyczyn niedoboru witaminy A w surowicy u chorych, którzy nie mają niewydolności trzustki prowadzi się liczne badania. Próby znalezienia związku między chorobami wątroby a stężeniem witaminy A w surowicy u tych chorych są nieprzekonywujące [129].

Zwiększone zapotrzebowanie na witaminę E (α-tokoferol) jest obserwowane przy nasileniu stresu oksydacyjnego, który wiąże się z przewlekła chorobą dróg oddechowych u chorych z CF [130]. Witamina E jest silnym antyoksydantem chroniącym lipoproteiny i błony komórkowe przed uszkodzeniem. Obniżone stężenie witaminy E obserwuje się u prawie wszystkich chorych dzieci z CF, niezależnie od zewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki, nawet tuż po urodzeniu [126]. Powyższe obserwacje w połączeniu z faktem, że przyjmowanie enzymów trzustkowych nie wpływa na podwyższenie obniżonego stężenia witaminy E w surowicy pozwala przypuszczać, że zewnątrzwydzielnicza niewydolność trzustki nie jest jedynym przyczyną jej obniżenia. Zaburzone wydzielanie kwasów żółciowych do jelita odgrywa dużą rolę w zmniejszonym wychwycie zwrotnym witaminy E z jelita [131], [132]. Wydaje się, że u chorych z CF uszkodzenie wątroby z niewielką cholestazą nie odgrywa istotnej roli w tym kontekście [133]. Mimo, że u chorych z CF często obserwuje się niedobory α-tokoferolu, jednak objawy kliniczne niedoboru występują niezmiernie rzadko. Jednakże długotrwały niedobór witaminy E może prowadzić do niedokrwistości hemolitycznej u niemowląt [134] oraz uszkodzenia układu nerwowego u starszych pacjentów [135]. Nadal trwają spekulacje, czy suplementacja witaminą E chroni drogi oddechowe przed stresem oksydacyjnym. Ostatnie badania wykazują pozytywny związek pomiędzy FEV_1 i stężeniem witaminy E w surowicy chorych z CF [136].

U 25% niemowląt z CF w pierwszych 3 miesiącach życia, przed wprowadzeniem jakiegokolwiek leczenia, obserwuje się niedobór $25(OH)D_3$ [137]. Ze względu na fakt, iż witamina D powstaje głównie wskutek promieniowania słonecznego, którego nasilenie zależy od pór roku i położenia geograficznego, trudne jest dokładne określenie norm jej stężenia i częstości występowania niedoborów [138]. U młodzieży z CF obserwuje się osteopenię i osteoporozę, w których etiologii witamina D odgrywa mniejsza rolę [138]. Osteopenia i osteoporoza występuje odpowiednio u 28 - 47% i 20 - 34% dzieci [136]. Witamina D poprzez swój aktywny metabolit $1,25(OH)_2D_3$ wpływa na metabolizm innych tkanek i narządów w organizmie człowieka, w tym nabłonka dróg oddechowych Potwierdzają to badania eksperymentalne, epidemiologiczne i molekularne ostatniego dziesięciolecia [139], [140] również u chorych z CF [141]. Witamina D jest też regulatorem odpowiedzi immunologicznej [142] hamuje ekspresję cytokin prozapalnych, również w drogach oddechowych u chorych z CF [143]. W nielicznych badaniach wskazuje się, że niedobór kalcydiolu w surowicy krwi przyczynia się do pogarszania wydolności oddechowej

i podatności na zakażenia dróg oddechowych u chorych z CF [144].

Ostatnie badania dowodzą, że witamina K prócz znanej roli w krzepnięciu krwi [145], pełni istotną funkcję w metabolizmie kości spełniając rolę kofaktora γ-karboksylazy odpowiadającej za γ-karboksylację osteokalcyny, która jako główne niekolagenowe białko kości jest produkowana przez osteoblasty podczas tworzenia kości [145], [146]. Przez tą funkcję witamina K wpływa protekcyjnie na kości. Do czynników wpływających na obniżenie stężenia witaminy K, oprócz zaburzeń wchłaniania tłuszczów spowodowanych niewydolnością trzustki, zalicza się również upośledzone krążenie wątrobowo-jelitowe oraz występujące w przebiegu chorób wątroby obniżenie puli kwasów żółciowych, częste antybiotykoterapie choroby oskrzelowo-płucnej oraz nieprawidłową dietę. Dodatkowym czynnikiem zmniejszającym absorpcję witaminy K jest stan po resekcji fragmentu jelita cienkiego w przebiegu niedrożności smółkowej [37], [147]. Niedobór witaminy K manifestuje się zaburzeniami krzepnięcia. Ponadto prowadzi do zaburzonej mineralizacji kości, a w konsekwencji do osteoporozy [148]. U pacjentów z CF bez współistniejących chorób wątroby otrzymujących odpowiednią dawkę suplementacyjną witaminy K oraz enzymów trzustkowych rzadko obserwuje się zaburzenia koagulologiczne [149]. Jednakże, dostępne dane w piśmiennictwie wskazują na występowanie tych zaburzeń, głównie u niemowląt z CF [150]–[153]. U pacjentów z CF przewlekły niedobór witaminy K objawia się znacznie częściej osteopenią niż koagulopatią [149].W stanie niedoboru witaminy K powstają tzw. proteiny indukowane niedoborem witaminy K (ang. proteins induced by vitamin K absence – PIVKA), występując w formie niekarboksylowanej, nie spełniają swojej biologicznej funkcji [154]. Do grupy tych białek należą: PIVKA II, PIVKA VII, PIVKA IX, PIVKA X, PIVKA C, PIVKA S oraz PIVKA Z [155]. Niekarboksylowana protrombina (ang.: prothrombin inducted by vitamin K absence – PIVKA-II) jest nieaktywnym prekursorem aktywnego czynnika II. Ma on szerokie zastosowanie, między innymi jest wykorzystywany, jako złoty standard w diagnostyce subklinicznego niedoboru witaminy K [149]. PIVKA - II jest uważana za znacznie bardziej wrażliwy parametr niedoboru witaminy K aniżeli czas protrombinowy (ang. prothrombin time – PT). Gdyż uważa się, że zaledwie 50% prawidłowego stężenia protrombiny wystarczy do zachowania PT w granicach wartości referencyjnych [156].

U pacjentów z CF rzadko obserwuje się niedobory witamin rozpuszczalnych w wodzie w tym witaminy C. Wiadomo natomiast, że stężenie witaminy C w surowicy jest związane z wiekiem i różnymi wskaźnikami stanu zapalnego [157]. Hydrofilny charakter kwasu L-askorbinowego sprawia, że jego nadmiar wydalany jest z moczem, tylko niewielkie jego ilości są przechowywane w leukocytach i płytkach krwi [158]. Stężenie witaminy C w moczu jest ściśle uzależnione od podaży tej witaminy w żywności [159]. Oznaczanie witaminy C w moczu jest ważnym wskaźnikiem diagnostycznym, ponieważ jej stężenie w moczu maleje znacznie szybciej niż w surowicy i może być pierwszym objawem jej niedoboru. Czynnikami wpływającymi

znacząco na stężenie witaminy C w moczu jest nasilony stres oksydacyjny i stan zapalny, powodują one zwiększone wydalania witaminy C z moczem [160]. W dostępnych bazach publikacji medycznych nie znaleziono prac oceniających wydalanie witaminy C u chorych z CF.

Mukowiscydoza wiąże się z ryzykiem niedoboru niezbędnych kwasów tłuszczowych w surowicy. Tłuszcze surowicy i tkanek u chorych charakteryzują się niską zawartością prekursorów niezbędnych kwasów tłuszczowych, kwasu linolowego i α-linolenowego [161], [162]. W przedziałach łagodnej ekspresji klinicznej zawartość kwasu α-linolenowego i linolowego jest zazwyczaj prawidłowa. Jakkolwiek prawidłowy stan odżywienia nie wyklucza istotnego niedoboru kwasu linolowego. [163]. U dzieci wraz ze wzrostem w osoczu stężenia kwasu linolowego obserwuje się lepszy stan odżywienia i lepszy stan kliniczny w tym wydolność oddechową (FEV_1). Konieczne są dalsze badania oceniające przydatność kliniczną analizy stężenia kwasu linolowego, jako parametru oceny stanu odżywienia u dzieci z CF [164]. U pacjentów z CF w licznych badaniach opisuje się niedobory kwasów n-3 długołańcuchowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WNDKT – wielonienasycone długołańcuchowe kwasy tłuszczowe) w tym niedoboru kwasu eikozapentaenowego (EPA) i dokozaheksaenowego (DHA) [165]. Jednocześnie, doniesienia dotyczące stężenia n-6 WNDKT tak jest w przypadku kwasu arachidonowego są niejednoznaczne, opisuje się bowiem obniżenie, stężenie w graniach normy oraz podwyższenie stężenia kwasu we krwi chorych z CF. [165]. Dodatkowo w piśmiennictwie wskazuje się, że u dzieci z CF obserwuje się zaburzenia profilu nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych [166]. Zaburzenia w profilu kwasów tłuszczowych prowadzą do zaburzeń procesów fizjologicznych, takich jak uszkodzenie struktury i funkcji komórek, czego efektem może być: uszkodzenia skóry, zaburzenia odporności, funkcji nerek, wątroby i układu oddechowego [167], [168]. Biologiczne działanie kwasów tłuszczowych zależy nie tylko od bezwzględnego poziomu konkretnego kwasu tłuszczowego, ale również od stosunku kwasów tłuszczowych n-6 do n-3 [169]. Zaburzenia proporcji kwasów z rodziny n-3 i n-6 prowadzą do zmian w metabolizmie, powstaje więcej bardziej aktywnych mediatorów zapalenia pochodzących z rodziny n-6. Niedobory niezbędnych kwasów tłuszczowych nie powstają jedynie w mechanizmie zaburzonego ich wchłaniania spowodowanego niewydolnością trzustki, podkreśla się to w badaniach gdzie zaburzenia profilów kwasów tłuszczowych występują też u chorych z prawidłową funkcją trzustki [170] i dobrze odżywionych pacjentów [165], [170]. To samo dotyczy chorych z heterozygotyczną mutacją genu CFTR [171]. Co może potwierdzać, że zaburzenia w profilu niezbędnych kwasów tłuszczowych są spowodowane nie tylko zaburzeniami wchłaniania, ale też dysfunkcją białka CFTR [170]. Naukowcy sugerują, że białko CFTR może mieć wpływ na komórkowy metabolizm kwasów tłuszczowych i te dysfunkcje mogą odpowiadać za różną ekspresję fenotypową mukowiscydozy [167]. Dodatkowo do obniżenia stężenia kwasów wielonienasyconych przyczynia się uszkodzenia WNDKT przez peroksydację u pacjentów z niskim poziomem antyoksydantów,

a dodatkowo nasileniem stresu oksydacyjnego w przebiegu infekcji [170]. Mimo, że mechanizm regulacji kwasów tłuszczowych błony komórkowej przez białko CFTR jest nieznany, to wiadomo, że niski poziom kwasu dokozaheksaenowego (DHA) może odgrywać rolę w nadmiernej odpowiedzi zapalnej u chorych z mukowiscydozą. Kwas DHA ulega przemianie w mediatory przeciwzapalne (dokozatrieny i resolwiny serii 17S), które w normalnych warunkach generowane są w przebiegu procesu zapalnego. Obniżone stężenie kwasu DHA u pacjentów z CF współwystępuje z nasilonym stanem zapalnym, ale niezbędne są dalsze badania definiujące patomechanizm tego zjawiska [172] również w celu ustalenia, czy suplementacja tego kwasu tłuszczowego mogłoby wpływać na leczenie mukowiscydozy i zmniejszania stanu zapalnego w przebiegu choroby oskrzelowo - płucnej.

Dokładnie zaplanowane i przeprowadzone badania rozwoju fizycznego i pogłębiona ocena stanu odżywienia z oceną składu ciała u dzieci z mukowiscydozą pozwalają na wczesne rozpoznanie niedożywienia i szybkie włączenie odpowiedniego leczenia żywieniowego [124].

1.4. Leczenie żywieniowe

Według zaleceń Polskiej Grupy Roboczej Mukowiscydozy podstawą leczenia mukowiscydozy jest indywidualnie dopasowane postępowanie żywieniowe w tym dieta hiperkaloryczna, suplementacja enzymów trzustkowych i witamin [Tab. 2], terapia inhalacyjna, antybiotykoterapia i fizjoterapia.

Tabela 2 Sugerowane wstępne dawki suplementacyjne witamin u dzieci z CF [37]

Witamina	Dawkowanie	Przeliczniki
A	• 2000-6000 j.m. w 1 r.ż. • 3000-10 000 j.m. >1 r.ż.	1µg= 3,3 j.m.
D	• 400 j.m. dla niemowląt • 400-800 j.m. >1 r.ż. (w wyjątkowych sytuacjach do 2000 j.m.)	1 µg= 40 j.m.
E	• 50-100 mg dla niemowląt • 100-300 mg dla dzieci 1-10 lat • 200-400 mg >10 r.ż.	1mg= 1,5 j.m.
K	• **dawka podstawowa** (wskazana ocena wiarygodnych markerów ustrojowych zasobów witaminy K) 0,15-0,3 mg/dobę u dzieci • **dawka terapeutyczna** 2,5-20 mg/tydzień	
β - karoten	0,5-1,0 mg/kg m.c./ dobę (max. 30mg/dobę)	

Fizjoterapia ułatwia usuwanie treści z drzewa oskrzelowego. Obejmuje wiele technik dostosowanych do wieku i stanu zdrowia pacjenta. Aerozoloterapia pozwala dostarczyć leki rozszerzające oskrzela, rozrzedzające wydzielinę i antybiotyki. Szczególnie istotne w leczeniu mukowiscydozy poza codzienną systematyczną terapią jest intensywne leczenie zaostrzeń choroby oskrzelowo - płucnej. Największe znaczenie ma optymalna antybiotykoterapia dożylna i wziewna.

Kluczowym dla wyznaczania standardów postępowania terapeutycznego okazały się być wyniki badań przeprowadzonych w Toronto i Bostonie, które wykazały związek pomiędzy postępowaniem żywieniowym a stanem klinicznym oraz czasem przeżycia pacjentów z mukowiscydozą [173]. W raporcie konferencji dotyczącej postępowania żywieniowego u chorych na CF już w roku 1992 znalazło się stwierdzenie „Nie ma żadnego powodu, aby zaakceptować niepowodzenia żywieniowe i/lub zaburzone wzrastanie u któregokolwiek z pacjentów chorych na mukowiscydozę" [174].

Postępowanie żywieniowe obejmuje stosowanie diety wysokoenergetycznej, bogatobiałkowej i wysokotłuszczowej. Podaż energii powinna być zwiększona o 30 - 50% w porównaniu do zapotrzebowania zdrowych rówieśników. Białko w diecie powinno stanowić około 15 %, tłuszcze około 35 - 45%, natomiast węglowodany około 40 - 50% całkowitej energii [37]. Celem stosowania diety jest zapobieganie niedożywieniu lub jego leczenie [37]. Konstan i wsp. uważają, że właściwe postępowanie żywieniowe wdrażane od wczesnych etapów życia chorego ma zasadniczy wpływ na funkcjonowanie układu oddechowego [175]. Stosowanie suplementów białkowo - energetycznych zostało ujęte w standardach postępowania żywieniowego w CF [37], [128], [176].

Znaczne niedożywienie może wymagać zastosowania innych poza doustną suplementacją, metod leczenia żywieniowego w tym żywienia dojelitowego. W skrajnych wyjątkowych przypadkach pacjent może czasowo wymagać żywienia pozajelitowego. Obecnie nikt nie kwestionuje ogromnego znaczenia postępowania żywieniowego w CF. Należy jednak pamiętać, że poradnictwo żywieniowe może być skuteczne i wystarczające w większości przypadków sprzyjając poprawie stanu klinicznego pacjentów z mukowiscydozą [177].

Mukowiscydoza wymaga wielokierunkowego postępowania, począwszy od właściwej opieki lekarsko - fizjoterapeutycznej aż po pomoc psychologiczną i socjalną. Obserwuje się wydłużanie długości życia chorych na CF. W 1969 r. przeżywalność wg danych amerykańskich wynosiła średnio 14 roku życia, podczas gdy w 2000 r. sięgała już 32 lata [178] związane jest to z postępem wiedzy medycznej. Według szacunków z krajów wysokorozwiniętych, uważa się, że pacjenci z CF urodzeni w 2000 r. przeżyją średnio 50 lat [179][178].

Stopień zaawansowania zmian w poszczególnych narządach wpływa na długość i jakość życia chorych na CF. Stąd istotną staje się systematyczna ocena stanu zdrowia pacjenta, w tym ocena stanu odżywienia, ocena przebiegu choroby w tym przede wszystkim wydolności układu oddechowego, wykrywanie powikłań i chorób towarzyszących. W zaawansowanych stadiach choroby często wymagane jest założenie żylnego cewnika centralnego (typu portu naczyniowego) oraz zastosowanie koncentratora tlenu. W części przypadków niezbędny okazać się może przeszczep płuc lub wątroby [180], [181].

Rozwój technik molekularnych i zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych CF pozwala na wytyczanie wciąż nowych kierunków strategii leczniczych. Spośród nich najwięcej nadziei pokłada się w terapii genowej oraz terapii z użyciem komórek macierzystych.

1.5. Podsumowanie

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa należy stwierdzić, że ocena stanu odżywienia u dzieci z mukowiscydozą jest bardzo istotna już we wstępnej diagnostyce CF, w ocenie stanu zaawansowania schorzenia, a także, co należy podkreślić, pomocna w podjęciu decyzji o wyborze i ewentualnej późniejszej modyfikacji sposobu żywienia.

Wyniki prowadzonych badań wskazują, że intensywna, profesjonalna opieka medyczna w wyspecjalizowanych centrach zajmujących się leczeniem mukowiscydozy może poprawić stan odżywienia małych pacjentów z CF, ich tempo wzrastania, a także w konsekwencji przebieg kliniczny, który związany jest ze stanem odżywienia. Stwierdzenie to wyznaczyło kierunek postępowania mający na celu osiągnięcie prawidłowego tempa wzrastania u dzieci chorych na CF oraz prawidłowego stanu odżywienia pacjentów w każdym wieku. Tak, aby dzieci z CF nie odbiegały, jeśli chodzi o rozwój fizyczny i stan odżywienia od swoich rówieśników.

O ile wiedza dotycząca stanu odżywienia i jej związku ze stanem klinicznym u dzieci z mukowiscydozą jest coraz bardziej rozległa, to pojawiające się doniesienia na temat stanu odżywienia dzieci z mukowiscydozą nie traktują tematu szeroko, nie ma prac oceniających stan odżywienia u dzieci z CF z województwa pomorskiego. Ujęcie tematu stanu odżywienia w populacji dzieci i młodzieży w tak szeroki sposób wydawało się potrzebne w dobie coraz dłuższego ich życia. Istotnie ważne w tej grupie pacjentów jest odpowiednio wczesne zastosowanie interwencji żywieniowej dostosowanej do indywidualnych potrzeb pacjenta, tak aby przez poprawę stanu odżywienia i wzrastania, poprawić stan kliniczny. Przez zmniejszenie częstości występowania zaostrzeń oskrzelowo - płucnych i zwolnienie tempa postępu choroby można poprawić jakość życia dzieci z CF, tak aby w jak najmniejszym stopniu odbiegała ona od zdrowych rówieśników.

2. Cele pracy

I. Prospektywna ocena rozwoju fizycznego, stanu odżywienia oraz składu ciała dzieci z CF.

II. Określenie stężenia witamin A, 25(OH)D_3, E, K1 i profilu kwasów tłuszczowych we krwi oraz stężenia witaminy C w moczu jako potencjalnych markerów niedożywienia dzieci z CF.

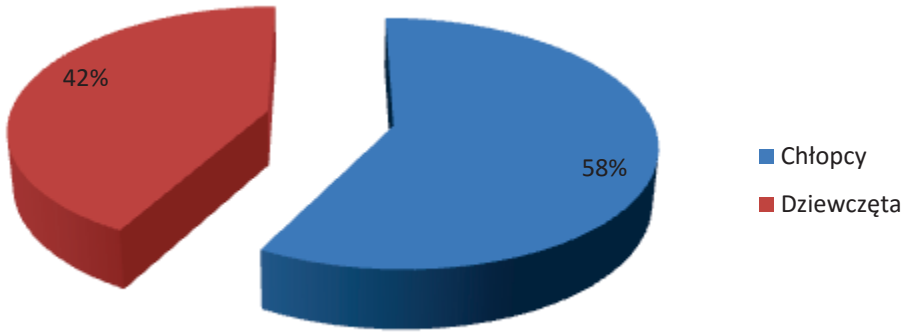
III. Określenie związku pomiędzy rozwojem fizycznym i parametrami stanu odżywienia a wydolnością układu oddechowego, kolonizacją dróg oddechowych oraz typem mutacji genu CFTR.

3. Materiał i metody

3.1. Charakterystyka badanej populacji dzieci

3.1.1. Charakterystyka grupy chorych dzieci z mukowiscydozą

Do badania wstępnego zakwalifikowano ogółem 75 dzieci w tym 33 dziewcząt i 42 chłopców (Ryc. 2) w wieku od 9 miesięcy do 18 roku życia (216 miesięcy) (średnia wieku pacjentów wynosiła 110,3 ± 64,6 miesięcy; mediana 112 miesięcy) z rozpoznaną mukowiscydozą pozostających pod opieką Poradni Leczenia Mukowiscydozy przy Szpitalu Dziecięcym Polanki im. Macieja Płażyńskiego w Gdańsku Sp. z o.o.. Badania zostały przeprowadzone w trakcie wizyt w poradni i/lub hospitalizacji w Szpitalu Dziecięcym Polanki im. Maciej Płażyńskiego w Gdańsku.



Rycina 2 Podział grupy badanej według płci.

U wszystkich badanych rozpoznanie CF postawiono na podstawie wywiadu, objawów klinicznych oraz podwyższonego stężenia chlorków w pocie [37], [182]. Potwierdzenie rozpoznania uzyskano w badaniu molekularnym genu CFTR wykonanym w ośrodkach diagnostyki molekularnej CF (Zakład Genetyki Medycznej w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie, Kierownik: Prof. zw. dr hab. Ewa Bocian; Genomed S.A. W Warszawie, Kierownik: dr n. med. Katarzyna Borg).

Mutacje w jednym lub obu allelach genu CFTR zidentyfikowano u 74 (98,7%) pacjentów, u 1 pacjenta (1,3%) chorych nie udało się określić genotypu. Mutacja F508del występowała na 99 (66%) allelach. W badanej grupie mutacje CFTR dele2,3(21kb) obecna była na 6 (4%), a mutacja 1717-1A>G obecna na 5 (3%) allelach. Na 4 (2,7%) allelach zidentyfikowano mutację N1303K, a na 2 (1,3%) G542X; 3659delC; 3600+2insT; 2184insA oraz 3849+10kbC>T. Homozygotami F508del było 30 (40%) pacjentów. Z kolei u 39 (52%) chorych wykazano obecność powyższej mutacji w jednym allelu. Łącznie zidentyfikowano 27 różnych mutacji genu CFTR. Częstość występowania poszczególnych genotypów zestawiono w tabeli 3.

Tabela 3 Częstość występowania poszczególnych genotypów w badanej grupie dzieci chorych.

Mutacja	n	%
delF508/delF508	30	40
delF508/-	5	6,67
delF508/dele2,3(21kb)	5	6,67
delF508/1717-1G>A	3	4,00
delF508/3659delC	2	2,67
delF508/3600+2insT	2	2,67
delF508/N1303K	2	2,67
delF508/3849+10kbC>T	2	2,67
delF508/4374+1G>T	1	1,33
delF508/3171insC	1	1,33
delF508/IVS2+1G>T	1	1,33
delF508/N1282X	1	1,33
delF508/E92K	1	1,33
delF508/R1158X	1	1,33
delF508/2184insA	1	1,33
delF508/K710X	1	1,33
delF508/dup16,17a	1	1,33
delF508/G542X	1	1,33
delF508/1078delT	1	1,33
delF508/M952T	1	1,33
delF508/2184insA	1	1,33
delF508/Y1092X	1	1,33
delF508/296+1G>T	1	1,33
delF508/IVS-5T(TG)11	1	1,33
delF508/3272-26A-G	1	1,33
delF508/2143delT	1	1,33
G542X/N1303K	1	1,33
N1303K/dele2,3(21kb)	1	1,33
Q1281X/-	1	1,33
R553x/1717-1G>A	1	1,33
1717-1G>A/1717-1G>A	1	1,33
-/- *	1	1,33

*nie znaleziono mutacji

3.1.2. Charakterystyka grupy referencyjnej.

Grupę referencyjną stanowiło 33 zdrowych dzieci, w tym 14 (60%) dziewcząt i 19 chłopców (40%), w wieku od 9 miesięcy do 18 lat (216 miesięcy) (średnia wieku pacjentów wynosiła 116 ± 65, Mediana 137 miesięcy). Struktura wieku i płci obu grup były podobne. Nie

stwierdzono istotnych różnic w zakresie odsetka badanych dziewcząt i chłopców (p = 0, 879), jak również ich wieku (p = 0, 7133) pomiędzy grupą dzieci z mukowiscydozą w stosunku do grupy referencyjnej.

Podstawą oceny ich stanu zdrowia był wywiad lekarski i badanie fizykalne. Zarówno w badaniu podmiotowym jak i przedmiotowym nie stwierdzono w tej grupie dzieci cech ostrej choroby infekcyjnej ani żadnej choroby przewlekłej, nie przyjmowały żadnych leków ani suplementów diety w ciągu 3 miesięcy poprzedzających włączenie do badania.

Dzieci zakwalifikowane do tej grupy były pacjentami oddziałów Pomorskiego Centrum Traumatologii w Gdańsku: Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed, Szpitalnego Oddziału Ratunkowego oraz Oddziału Ortopedycznego PCT.

Dzieci przebywające na tych oddziałach były pacjentami przyjętymi z powodu:

- obecności ciał obcych lub podejrzenia obecności ciał obcych w przewodzie pokarmowym (krew pobierana była przed stosowaniem znieczulenia w przypadku konieczności ewakuacji ciała obcego metodą gastroskopową),
- zmian kostnych (zniekształceń, wyrośli itp.) przed korekcyjnym zabiegiem ortopedycznym i chirurgii plastycznej po wykluczeniu chorób przewlekłych jw.

3.2. Metodologia

- **I etap badania -** badanie przekrojowe, w którym został określony kliniczny i biochemiczny fenotyp pośredni CF. Grupę badaną porównano z grupą referencyjną.
- **II etap badania -** badanie prospektywne, w którym po 12 miesiącach obserwacji dzieci z CF został wykonany ponownie zestaw badań wyjściowych oceniających stan odżywienia, ocena ewentualnej progresji uszkodzenia narządowego w tym wydolności układu oddechowego u pacjentów z CF. W odróżnieniu od etapu I, w badaniu prospektywnym udział wzięła tylko grupa badana.

Schemat przebiegu przeprowadzonych badań II etapu oraz liczebność pacjentów w poszczególnych jego fazach przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4 Harmonogram badań i liczebność pacjentów w analizowanej grupie w poszczególnych fazach badania.

Badanie wstępne (okres jesienno - zimowy, listopad - marzec)	**Badanie po 12 miesiącach** (okres jesienno – zimowy, listopad - marzec)
Liczba pacjentów [n] = 75	**Liczba pacjentów [n]** = 51
K – 33 (44%) M - 42 (56%)	**K** - 23 (45, 1%) **M** – 28 (54,9%)
Średnia wieku 110,3 miesięcy ± 64,6 SD	**Średnia wieku** 138,92 miesięcy ± 60,71 SD

Jak wynika z powyższej tabeli, liczebność pacjentów w dwóch etapach badania była rożna, co miało związek z rezygnacją w przypadku kilkunastu pacjentów z dalszego udziału w badaniach w trakcie jego trwania, z powodu niezgłoszenia się na badania w wyznaczonym wcześniej terminie w Poradni Leczenia Mukowiscydozy, jak również z powodu zgonu jednej pacjentki, po 8 miesiącach od badania wstępnego.

U wszystkich pacjentów z CF oraz u dzieci z grupy kontrolnej w okresie jesienno - zimowym (listopad – marzec) przeprowadzono następujące badania:

3.2.1. Badanie podmiotowe

Dane kliniczne chorych dzieci z CF zbierane były w dwóch etapach: podczas wywiadu lekarskiego oraz na podstawie historii chorób prowadzonych w czasie hospitalizacji w Szpitalu Dziecięcym Polanki w Gdańsku i dokumentacji sporządzonej w trakcie wizyt kontrolnych pacjentów w Poradni Leczenia Mukowiscydozy w Gdańsku. Zbierano dane dotyczące rozpoznania, w tym rodzaju mutacji genu CFTR, prowadzonej terapii w tym suplementacji witamin A, D, E, K, występowania zewnątrzwydzielniczej niewydolności trzustki (ocenianej na podstawie stężenia elastazy-1 w stolcu), wydolności układu oddechowego na podstawie wykonywanej spirometrii, występowanie alergicznej aspergilozy oskrzelowo - płucnej (na podstawie swoistych IgE p*Aspergillus fumigatus*), powikłań infekcyjnych ich częstości i przebiegu oraz częstości hospitalizacji i ich powodów. Informacje o chorobach współistniejących również pochodziły z dokumentacji medycznej.

Wywiad lekarski przeprowadzany każdorazowo przed pobraniem krwi do badań ukierunkowany był w szczególności na zachorowania infekcyjne (rodzaj, przebieg, wyniki badań laboratoryjnych), rodzaj stosowanej terapii w okresie między badaniami a także przeprowadzano wywiad rodzinny w kierunku występowania zaburzeń odżywiania i stanu odżywienia w rodzinie.

Charakterystykę kliniczną dzieci z grupy badanej na podstawie dokumentacji medycznej przedstawiono w tabeli 5.

Tabela 5 Choroby współistniejące u badanej grupy dzieci z mukowiscydozą.

Choroby współistniejące	Liczba pacjentów [n]	% ogółu
Niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki	65	86,7 %
Alergiczna aspergiloza oskrzelowo - płucna	7	9,3%
Polipy nosa	7	9,3%
Hepatopatia*	4	5,3%
Kamica pęcherzyka żółciowego	4	5,3%
Niedoczynność tarczycy	3	4%
Cukrzyca 1	2	2,6%
Choroba trzewna	1	1,3%
Osteoporoza	1	1,3%
Astma oskrzelowa	1	1,3%

*pod określeniem hepatopatia rozumiano wszelką patologię wątroby stwierdzaną podczas badania klinicznego, w tym odstępstwa od normy w badaniu fizykalnym, w badaniach biochemicznych lub obrazujących, oraz związane z tym dolegliwości subiektywne.

3.2.2. Ocena wydolności oddechowej

Badania spirometryczne przeprowadzono w Pracowni Diagnostyki Czynnościowej Płuc przy Poradni Leczenia Mukowiscydozy w Gdańsku przy użyciu spirometru firmy MES, model LUNGTEST 1000, kalibrowanego zgodnie z zaleceniami producenta. Ograniczenia dotyczące przeprowadzenia badania wynikały z wieku pacjentów (< 5. r.ż) oraz możliwości i chęci ich współpracy z wykonującym badanie. U wszystkich dzieci dysponowano wynikami wartości procentowych następujących badań spirometrycznych układu oddechowego: maksymalnej objętości powietrza wydychanego w czasie 1 sekundy po maksymalnym wdechu FEV_1 (natężona objętość wydechowa pierwszosekundowa, ang.: Forced Expiratory Volume in 1 Second), natężonej pojemności życiowej płuc FVC oraz maksymalnego środkowo - wydechowego przepływu FEF_{25-75}, pozwalającego na ocenę przepływu powietrza w drobnych oskrzelach. W opracowaniu przedstawiono wyniki pomiarów spirometrycznych standaryzowane w odniesieniu do wieku, płci oraz wysokości ciała [183], [184].

3.2.2.1. Funkcja płuc

Badanie spirometryczne wykonano u 55 (73,3%) pacjentów. Ze względu na ograniczenia wiekowe (< 5. r.ż) badania nie przeprowadzono u 20 (26,7%) chorych. Prawidłową funkcję płuc stwierdzono u 28 (50,9%) pacjentów, natomiast znaczące zaburzenia w spirometrii u 3 (5,45%) badanych [Tab. 6].

Tabela 6 Funkcja płuc

% Wartość należna FEV_1	N [%]
< 40%	3 [5,45%]
40 - 80%	24 [43,6%]
> 80%	28 [50,9%]

3.2.3. Ocena kolonizacji dróg oddechowych

Dane na temat kolonizacji dróg oddechowych przez patogeny - *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia* (dodatni wynik posiewu plwociny) i florę fizjologiczną uzyskano w ramach przeprowadzonego wcześniej postępowania diagnostycznego. Materiał do badania mikrobiologicznego pochodził z plwociny, a w przypadku jej braku – z głębokiego wymazu z gardła. U wszystkich dzieci dysponowano wynikami badań przeprowadzonych w Laboratorium Medycznym BRUSS. Badania mikrobiologiczne były przeprowadzone zgodnie ze standardami wykonywania posiewów dla wybranych patogenów układu oddechowego, uznanych i stosowanych przez laboratorium Bruss.

3.2.3.1. Kolonizacja dróg oddechowych

U 59 (78,7%) pacjentów nie stwierdzono obecności *Pseudomonas aeruginosa*, natomiast 16 (21,3%) badanych było przewlekle skolonizowanych powyższą bakterią.

U 41 (54,7%) pacjentów nie stwierdzono obecności *Staphylococcus aureus*, natomiast 34(45,3%) badanych było przewlekle skolonizowanych powyższą bakterią, w tym u 2 (2,67%) pacjentów był to Staphylococcus metycylino oporny (MRSA).

U 72 (96%) pacjentów nie stwierdzono obecności *Burkholderia cepacia*, natomiast 3 (4%) badanych było przewlekle skolonizowanych powyższą bakterią.

Florę fizjologiczną (*Paciorkowce zieleniejące i Neisseria spp*.) wyhodowano w 70 (93,3%) preparatach mikrobiologicznych pochodzących od pacjentów z ich dróg oddechowych.

3.2.4. Ocena wydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki

Oceniana została na podstawie stężenia elastazy- 1 w stolcu. Próbki stolca przechowywane były w temp. -20 stopni C w Poradni Leczenia Mukowiscydozy w Gdańsku, a następnie transportowane w suchym lodzie do Pracowni Analityki Klinicznej i Badań Czynnościowych Przewodu Pokarmowego Kliniki Gastroenterologii Dziecięcej i Chorób Metabolicznych w Poznaniu, gdzie metodą immunoenzymatyczną (ELISA, firmy ScheBo Biotech, Giessen, Niemcy) oceniano stężenia elastazy- 1 w stolcu [185], [186].

3.2.4.1. Funkcja zewnątrzwydzielnicza trzustki

Niewydolność zewnątrzwydzielniczą trzustki (stężenie elastazy- 1 w stolcu < 200 μg/g stolca) stwierdzono u 65 (86,7%) badanych, w tym ciężką niewydolność trzustki (stężenie elastazy- 1 w stolcu < 100 μg/g stolca) obserwowano aż u 62 (82,7%) pacjentów. Podczas gdy 10 (13,3%) pacjentów miała wydolną trzustkę.

Wszyscy badani byli leczeni zgodnie z aktualnymi standardami, wszystkie choroby współistniejące były rozpoznane zgodnie z obowiązującymi standardami leczenia mukowiscydozy [187]. Postępowanie lecznicze w zakresie układu pokarmowego obejmowało modyfikację żywienia wraz z suplementacją enzymów i witamin . Działania profilaktyczno - lecznicze dotyczące układu oddechowego obejmowały: fizjoterapię, terapię inhalacyjną i antybiotykową w zaostrzeniach oskrzelowo - płucnych oraz przewlekłej kolonizacji dróg oddechowych przez *P. aeruginosa.*

3.2.5. Badanie przedmiotowe

U każdego pacjenta zmierzone zostały następujące parametry antropometryczne:

- Masa ciała oznaczona była przy pomocy wagi lekarskiej Radwag WPT 60/150 OW, wyposażonej w miernik wagowy PUE C/31 z wyświetlaczem LCD z dokładnością do 100 g. Dzieci ważone były w bieliźnie. U niemowląt i dzieci do 18 miesiąca życia

dokonano pomiaru masy ciała w pozycji leżącej na plecach, przy wykorzystaniu wagi niemowlęcej Radwag WPT 10/20, z dokładnością pomiaru 5/10 g, bez pieluszki z dokładnością do 10 g. Wyniki pomiarów odniesiono do siatek centylowych właściwych dla wieku i płci z 1999 roku [78]. Niedobór masy ciała rozpoznano, gdy centyl masy ciała mieścił się między 3 - 10 percentylem, a znaczny niedobór masy ciała (wyniszczenie) < 3 percentyla.

- Całkowita wysokość ciała mierzona od podstawy do wierzchołka głowy, w pozycji stojącej, przy pomocy antropometru firmy Seca (model 216) (z dokładnością do 0,5 cm). Postawa dziecka była swobodna, bez nadmiernego wyprostowania, a głowa ustawiona oczno-usznej (dolne krawędzie oczodołów i górne krawędzie otworów usznych znajdowały się na jednym poziomie). U niemowląt i dzieci do 18 miesiąca życia dokonano pomiaru długości ciała od szczytu głowy do płaszczyzny podeszwowej stóp ustawionych prostopadle do podudzia w pozycji leżącej na plecach, przy wykorzystaniu infantometru z dokładnością do 0,5 cm. Wyniki odniesiono do siatek centylowych właściwych dla wieku i płci z 1999 roku [78]. Niskorosłość rozpoznano, gdy centyl wysokości ciała był < 3 percentyla.

Pomiarów antropometrycznych: masy i wysokości ciała dokonano z zastosowaniem techniki pomiarowej opisanej przez Martina i Sellera [188].

- Obwód ramienia mierzono przeprowadzając nierozciągliwą taśmę antropometryczną firmy Seca (model 201) poprzecznie w połowie długości między wyrostkiem barkowym a stawem łokciowym, swobodnie opuszczonego ramienia kończyny górnej niedominującej z dokładnością do 0,1 cm.
- Grubość fałdów skórno-tłuszczowych mierzono przy pomocy fałdomierza firmy Baseline, model 12 - 1112, z dokładnością do 1mm.

Pomiarów dokonano w następujących lokalizacjach:

a) nad mięśniem trójgłowym ramienia – pomiaru dokonano na tylnej powierzchni swobodnie upuszczonego ramienia w połowie jego długości odciągając fałd od powierzchni ciała i chwytając go u podstawy płaszczyznami mierzącymi fałdomierza. Fałd mierzono pionowo na kończynie górnej niedominującej.
b) pod łopatką – mierzono na placach poniżej dolnego kąta łopatki odciągając fałd od powierzchni ciała i chwytając go u podstawy płaszczyznami mierzącymi fałdomierza. Fałd mierzono poziomo po stronie niedominującej kończyny górnej.*

U niemowląt i dzieci do 18 miesiąca życia, których wysokość była mierzona w pozycji leżącej, pomiarów fałdów skórno-mięśniowych dokonywano również w pozycji leżącej.

Wykonywano każdorazowo trzy pomiary, uzyskując następnie wynik uśredniony.

* w badaniu brały udział również niemowlęta, ze względu na bolesność pomiarów fałdów skórno - tłuszczowych zdecydowano o odstąpieniu od pomiaru grubości fałdu na brzuchu. Pomiar ten można było pominąć ze względu na konstrukcję wzoru Slaughter'a, który wyznacza procentową zawartość tłuszczu uwzględniając tylko fałd nad mięśniem trójgłowym ramienia i pod łopatką.

3.2.6. Ocena stanu odżywienia

U każdego pacjenta dokonano oceny stanu odżywienia na podstawie niżej wymienionych parametrów:

indeks masy ciała BMI = M/L2

M - masa ciała w kilogramach, L - wysokość w metrach

Do oceny stanu odżywienia zastosowano wartości centylowowe BMI. Z powodu braku odpowiednich siatek centylowych BMI dla polskich dzieci poniżej 4 roku życia, do oceny stanu odżywienia wykorzystano aktualne, rekomendowane siatki centylowe WHO dla dzieci od urodzenia do 19 roku życia [Tab.7].

Oceniano stan odżywienia według następujących kryteriów WHO:

Tabela 7 Kryteria oceny stanu odżywienia przy pomocy siatek centylowych wskaźnika BMI wg WHO

Wartości centylowe BMI	Stan odżywienia
≤ 3 percentyl	znaczny niedobór masy ciała - niedożywienie
3-15 percentyl	niedobór masy ciała
15– 85 percentyl	norma
85 – 97 percentyl	nadwaga
≥ 97 percentyl	otyłość

3.2.7. Ocena składu ciała

3.2.7.1. Analiza antropometryczna

Wykorzystując pomiary grubości fałdów skórno - tłuszczowych na podstawie wzorów wg Slaughter i wsp. [189] wyznaczono procentową zawartość tłuszczu (%FM) w organizmie:

- **w przypadku, gdy suma fałdów nad mięśniem trójgłowym i pod łopatką < 35 mm**
- dla chłopców
  %FM = 1,21 x (suma 2 fałdów) – 0,008 x (suma 2 fałdów)^2 – 1,7 x 100%
- dla dziewcząt
  %FM = 1,33 x (suma 2 fałdów) – 0,013 x (suma 2 fałdów)^2 – 2,5 x 100%

- **w przypadku, gdy suma fałdów nad mięśniem trójgłowym i pod łopatką > 35mm**
- dla chłopców
  %FM = 0,783 x (suma 2 fałdów) + 1,6 x 100%
- dla dziewcząt
  %FM = 0,546 x (suma 2 fałdów) + 9,7 x 100%

Beztłuszczową masę ciała obliczono pośrednio:

- %FFM = 100% - %FM (uzyskany przy pomocy wzoru Slaughtera)

Obliczono ponadto wskaźnik Frisancho [190], informujący o stanie rozwoju tkanki mięśniowej według następującego wzoru:

obwód mięśni ramienia bez tkanki tłuszczowej =
[obwód ramienia – (π × grubość fałdu skórno-tłuszczowego na ramieniu]

3.2.7.2. Bioelektryczna analiza impedancyjna

Używając BIA zmierzono %FFM i %FM oraz całkowitą wodę organizmu jej komponentę zewnątrz- i wewnątrzkomórkową, jak również zawartość procentową masy mięśniowej i masy kostnej.

Do przeprowadzenia badań wykorzystano aparat firmy Maltron model BIO SCAN 920-2. Jest to aparat typu MF - BIA, wykorzystujący wiele częstotliwości, dzięki czemu może być stosowany u osób przewlekle chorych.

Pomiarów dokonywano przy użyciu systemu tetrapolarnego, czyli 4 jednorazowych elektrod samoprzylepnych (2 par równoległych elektrod), jedną parę umieszczano na przegubie i w miejscu największej szerokości grzbietu ręki prawej, drugą parę - na grzbiecie stopy prawej. W ten sposób uzyskano maksimum odległości, jaką w ciele ludzkim może pokonać prąd elektryczny, przy założeniu, że biegnie on najkrótszą drogą.

Pomiaru dokonywano podczas badania pediatrycznego, bez ubrań, wyłącznie w bieliźnie osobistej. Pacjent przyjmował pozycję leżącą 5 - 10 minut przed wykonaniem badania, jego kończyny spoczywały luźno pod kątem 30° – 45° w osi długiej do tułowia. Pacjent był odpowiednio przygotowany do badania, pomiary były wykonywane, co najmniej 4 godziny po posiłku, tak, aby zminimalizować błędy badania [Załącznik] [191].

Otrzymany wynik uwzględniający procentowy i wagowy skład ciała odnoszono do norm przyjętych dla wieku, płci i masy ciała. Pomiarów dokonano z dokładnością do 0,1 kg w ocenie masy mięśniowej, tłuszczowej i beztłuszczowej oraz z dokładnością do 1% w ocenie procentowego udziału masy tłuszczowej, beztłuszczowej oraz wody wraz z jej odsetkiem zewnątrz- i wewnątrzkomórkowym w organizmie.

3.2.8. Badania laboratoryjne

Dzieci zgłaszały się na pobranie krwi żylnej rano, na czczo, rano przed pobraniem dzieci z CF nie przyjęły suplementacji witamin. Pobierano 4 ml krwi, w celu oznaczenia stężeń następujących związków: witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, E, K1, 25(OH)D_3) oraz kwasów tłuszczowych. Również próbka moczu o pojemności 50 ml pobierana była rano, na czczo, w domach pacjentów i dostarczona w dniu przeprowadzanego badania w ramach projektu. Następnie w próbce moczu było oznaczone stężenie witaminy C. Od momentu pobrania do momentu przewiezienia do laboratoriów, w których wykonywano oznaczenia, materiał przechowywany był w chłodziarce w temperaturze 5℃ (nie dłużej jednak niż 4 godziny). W laboratoriach po odpowiednim przygotowaniu, próbki z krwią i moczem mrożono i przechowywano w temperaturze -20 do –70℃ do czasu wykonywania oznaczeń, nie dłużej jednak niż 6 miesięcy.

Oznaczenie witamin A, E, K1, 25(OH)D_3 techniką LC - MS:

Oznaczenie witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy krwi pacjentów wykonano metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas LC - MS (Agilent Technologies, Stevens Creek Blvd, CA, USA) w ramach współpracy w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Próbki krwi pobrano od dzieci do plastikowych probówek, odwirowano przy 4500 obr./min w czasie 15 min, a następnie surowicę przeniesiono do probówek typu Eppendorff i natychmiast zamrożono i przechowywano w temp. -20ºC aż do czasu analizy chromatograficznej. Surowicę w ilości 200 µl umieszczono w nowej probówce plastikowej typu Eppendorf, dodano 30 µl wzorca wewnętrznego - octanu retinolu o stężeniu 25 ng/ml. W celu deproteinizacji próbki dodano 800 µl metanolu. Całość wymieszano na jednostanowiskowej wytrząsarce do probówek przez 30 s. W dalszych etapach surowicę odwirowano przy 10000 obr./min w czasie 7 min w stałej temperaturze 4°C. Następnie do fazy ciekłej dodano dwukrotnie 800 µl n-heksanu. Warstwę organiczną zebrano i oddzielono, przeniesiono no nowych probówek plastikowych typu Eppendorff i odparowano do sucha w temperaturze 45°C w aparacie do odparowywania (koncentratorze) w warunkach próżniowych przez 0,5 h. Suchą pozostałość rozpuszczono w 100 µl metanolu, zmieszano na jednostanowiskowej wytrząsarce do probówek przez 30 s. Tak otrzymaną próbkę przeniesiono do fiolek, które umieszczono w termostatowanym automatycznym podajniku próbek i zadozowano do kolumny chromatograficznej celem wykonania analizy LC - MS.

W celu zabezpieczenia trwałości roztworów witamin, ze względu na ich wrażliwość na światło i temperaturę, wszystkie kolbki owinięto folią aluminiową i przechowywano w lodówce w temperaturze 4°C w ciemności. Natychmiast przed analizą próbki umieszczono w autosamplerze w warunkach termostatowanych w temperaturze 4°C i takie warunki utrzymywano w trakcie całej serii dozowanych próbek do kolumny chromatograficznej. Cały proces przygotowania próbek oraz ich analizy przeprowadzono w ciemności jak tylko było to możliwe do wykonania.

Analizę chromatograficzną LC - MS witamin rozpuszczalnych w tłuszczach przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu cieczowego Agilent 1260 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), wyposażonego w pompę binarną, automatyczny podajnik próbek (autosampler), detektor UV o zmiennej długości fali. Zestaw do wysokosprawnej chromatografii cieczowej był sprzężony z detektorem mas MS Agilent 6120, wyposażonym w źródło jonów typu elektrorozpraszania w polu elektrycznym (elektrosprej, ESI) oraz analizator typu pojedynczy kwadrupol Single Quad (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Rozdzielenie witamin uzyskano dzięki zastosowaniu kolumny Poroshell 120 EC ze specjalnym wypełnieniem typu „core-shell", o wymiarach 100 x 3,0 mm i średnicy ziaren 2,7 µm, dostarczonej przez firmę Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Dane chromatograficzne gromadzono i przetwarzano za pomocą programu komputerowego ChemStation (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Fazę ruchomą stanowiła mieszanina dwóch faz A i B. W skład fazy A wchodził acetonitryl zmieszany z 0,1% kwasem mrówkowym i 5 mM mrówczanem amonu, w stosunku objętościowym (v/v): 90 (acetonitryl): 10 (kwas mrówkowy z mrówczanem amonu). Faza B złożona była z metanolu zmieszanego również z 0,1% kwasem mrówkowym i 5 mM mrówczanem amonu w stosunku objętościowym 90:10 (v/v). Szybkość przepływu fazy ruchomej utrzymywano na poziomie 0,5 ml/min, a objętość próbki automatycznie zadozowana do kolumny wynosiła 10 µl. Kolumnę umieszczono w termostacie w 40°C. Przed dozowaniem na chromatograf próbki umieszczono w autosamplerze w temperaturze 8°C. Zoptymalizowany program elucji gradientowej badanych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach był następujący: w czasie od 0 do 2 min utrzymano 0% fazy B, dalej w czasie od 2 do 7 min, skład fazy B zmieniał się od 0 do 100% B. W czasie 7-18 min utrzymano 100% fazy B, aby następnie w ciągu 0,1 min (od 18 do 18,1 min) gradientowo zmieniać zawartość fazy B od 100 do 0% i rozpocząć proces równoważenia kolumny, który trwał od 18,1 do 25 min, tak, aby uzyskać warunki początkowe 0% składnika B. Czas potrzebny do rozdzielenia analizowanych związków dla pojedynczego oznaczenia wynosił 18 min, natomiast całkowity czas wraz z kondycjonowaniem kolumny wyniósł 25 min.

Detektor mas ustawiono na pracę w trybie jonów dodatnich. Monitorowano następujące sygnały pochodzące od jonów pseudomolekularnych m/z (m oznacza masę, z oznacza ładunek): dla witaminy 1,25(OH)D_3: 399 $[M + H]^+$; dla 25(OH)D_3 to 383 $[M + H]^+$; dla A: 269 $[M + H]^+$; dla E: 431 $[M + H]^+$; i dla K1: 451 $[M + H]^+$ oraz dla octanu tokoferolu (wzorzec wewnętrzny) to 473 $[M + H]^+$. W wyżej opisanych warunkach nastąpiło rozdzielenie badanych analitów w kolejności: 1,25$(OH)_2D_3$; 25(OH)D_3; A; E; octan retinolu (wzorzec wewnętrzny) i K_1; uzyskano następujące czasy retencji 1,76; 2,60; 2,94; 11; 11,56 i 13,54 min.

Oznaczenie witaminy C w moczu metodą elektroforezy kapilarnej:

Oznaczenie witaminy C w moczu pacjentów wykonano metodą elektroforezy kapilarnej przy użyciu aparatu Beckman P/ACE 5000 (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA), który był wyposażony w detector UV ze zmienną długością fali, autosampler oraz oprogramowanie do akwizycji danych Gold (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) w ramach współpracy w Katedrze i Zakładzie Chemii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Próbki moczu od każdego pacjenta po zamrożeniu w temp -20ºC, przed analizą rozmrożono i pobrano po 1000 ul do czystych probówek. Następnie dodano roztwór substancji wzorcowej składającej się z mieszaniny: kwasu L-askorbinowego (100 µg/ml) oraz chlorowodorku tiaminy (250 µg/ml). Mieszanina substancji wzorcowej była sporządzana każdego dnia analiz w następujący sposób - pobierano odpowiednią objętość roztworu podstawowego kwasu L-askorbinowego, zawierającą 100 µg substancji oraz odpowiednią objętość roztworu podstawowego chlorowodorku tiaminy, odpowiadającą 250 µg substancji i przenoszono do probówki typu eppendorf, po czym uzupełniano wodą redestylowaną do 1,0 ml. Tak przygotowane próbki zawierające również mieszaninę substancji wzorcowych odBIAłczono dodając 1000 ul acetonitrylu, który jednocześnie pełnił funkcję odczynnika dyspergującego. Następnie próbki wymieszano na wytrząsarce przez 2 minuty oraz odwirowano przy 13000 obr./min w czasie 11 min w stałej temperaturze 4°C. Następnie przeprowadzono ekstrakcję ciecz-ciało stałe (SPE), którą przeprowadzono na kolumienkach z wypełnieniem typu HLB. Rozpoczęto od kondycjonowania kolumienek HLB za pomocą 1 ml metanolu, a następnie 1 ml wody zakwaszonej o pH = 4,2. Nałożono próbę – supernatantu otrzymanego po wcześniejszym wirowaniu. Złoże suszono przez 5 minut. Następnie wymyto zaadsorbowane anality ze złoża za pomocą 0,5 ml wody zakwaszonej do pH = 4,2. Tak otrzymaną próbkę przeniesiono do specjalnych fiolek i umieszczono w automatycznym podajniku próbek celem wykonania analizy elektroforetycznej próbek.

Analizy elektroforetyczne prowadzono na aparacie Beckman P/ACE 5000 (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA) wyposażonym w detector UV ze zmienną długością fali, autosampler oraz oprogramowanie do akwizycji danych Gold (Beckman Instruments, Fullerton, CA, USA). System pracował w stałej temperaturze 22ºC. Aby zapewnić powtarzalność poszczególnych analiz nowa kapilara była kondycjonowana w następujący sposób: 10 min wodą dejonizowaną, 0.1 M NaOH przez 15 min, ponownie wodą dejonizowaną przez 15 min i 20 minut buforem separacyjnym. Ponadto pomiędzy analizami kapilarę płukano przez 1 min, 0.1 M NaOH, przez 1 min wodą dejonizowaną oraz przez 1 minutę buforem separacyjnym.

Do analizy witaminy C w moczu zastosowano niemodyfikowaną kapilarę krzemionkową o całkowitej długości 57 cm i przekroju wewnętrznym 75 µm. Do kapilary przyłożono napięcie 18 kV oraz długość fali detektora 280 nm. Bufor separacyjny o pH 7.75 przygotowano z 30 mM SDS, 100 mM kwasu borowego i 5 mM tetraboranu sodowego. Zastosowano 10 sek nastrzyk pneumatyczny.

Oznaczenie kwasów tłuszczowych w postaci estrów metylowych z zastosowaniem chromatografii gazowej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym.

Oznaczenie kwasów tłuszczowych w krwi dzieci wykonano metodą chromatografii gazowej sprzężonej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym ((*Varian 3400, Walnut Creek, USA*)) w ramach współpracy w Katedrze i Zakładzie Toksykologii Farmaceutycznej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego. Krew pobierano od dzieci z żyły do probówek zawierających EDTA jako antykoagulant a następnie wirowano 10 minut (3500 obr./min.) w temperaturze 4°C, oddzielano osocze i kożuszek leukocytarno-płytkowy, natomiast krwinki czerwone dwukrotnie przepłukiwano 0,9% roztworem NaCl. Przepłukane krwinki przenoszono do próbówek eppendorfa i przechowywano w temperaturze -80°C. W analogiczny sposób pobrano i przygotowano krwinki od dwóch osób dorosłych (do kontroli jakości oznaczeń), natomiast uzyskane erytrocyty od dzieci podzielono na porcje po około 250 µl i przechowywano do czasu analizy.

W każdej serii oznaczeń przygotowywano 7 próbek badanych oraz 1 próbkę kontrolną do wyznaczenia powtarzalności metody. Następnie krwinki rozmrażano i doprowadzano do temperatury pokojowej. Po starannym wymieszaniu, 200 µl krwinek przeniesiono do probówki eppendorfa (obj. 2 ml) i dodano 1,7 ml wody. Po wymieszaniu, odwirowano z prędkością 14000 obr./min. przez 3 minuty. Supernatant usunięto, pozostawiając na dnie próbówki osadzone błony erytrocytów. Błony ponownie zawieszono w 400 µl wody i dodano 1 ml mieszaniny metanol:chloroform (1:1, v/v) w celu ekstrakcji lipidów i wytrząsano przez 30 s. Po odwirowaniu (14000 obr./min., 3 min.) usunięto supernatant wraz z „kożuszkiem" a warstwę chloroformową przeniesiono do szklanej probówki. Ekstrakt odparowano do sucha w strumieniu azotu (50°C). Do suchej pozostałości dodano kolejno: 100 µl toluenu i 500 µl BF3 w metanolu. Szczelnie zamknięte probówki inkubowano w suchym bloku grzejnym (100°C) przez 60 minut. Po zakończeniu inkubacji i doprowadzeniu do temperatury pokojowej dodawano 800 µl wody oraz 300 µl heksanu i wytrząsano 30 s. Ekstrakt heksanowy zawierający estry metylowe kwasów tłuszczowych przeniesiono do fiolek chromatograficznych lub przechowano temp. -20°C do czasy analizy.

Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo - jonizacyjnym – (Varian 3400, Walnut Creek, USA) wyposażony był w kolumnę kapilarną Agilent Select Fame 100m×0.25mm, nr cat. CP7420 i dozownik split/splitless 1078. Zastosowano wodór jako gaz nośny o ciśnieniu na czole kolumny (45 psi) natomiast powietrze i wodór zasilające palnik detektora o przepływach odpowiednio 300 i 30 ml/min. Jako gaz uzupełniający (make-up) zastosowano azot o przepływie 30 ml/min. Rozdział analitów prowadzono z zastosowaniem następującego programu temperaturowego pieca kolumny: 178°C - 8 min., 178°C→235°C (4°C/min.), 235°C – 18 min. Temperatura dozownika wynosiła 250°C natomiast detektora 275°C. Próbki (2 µl) nastrzykiwane były w trybie podziału strumienia (split) 30:1. Tożsamość analitów (estrów metylowych kwasów tłuszczowych) potwierdzano w oparciu o czasy retencji analitów obecnych w mieszaninach wzorcowych (Supelco 37 FAME) oraz dostępne dane literaturowe.

Zidentyfikowano 30 kwasów tłuszczowych (estry metylowe). Interpretację ilościową przeprowadzono z zastosowaniem techniki normalizacji wewnętrznej. Suma pól powierzchni wszystkich zidentyfikowanych pików traktowana jest jako 100% natomiast udział poszczególnych kwasów jest określany procentowo wobec sumy.

3.3. Analiza statystyczna

Normalność rozkładu zmiennych ciągłych oceniano przy pomocy testu Kołmogorowa-Smirnowa. Charakterystyki statystyczne zmiennych ciągłych przedstawiono w postaci średnich arytmetycznych, odchyleń standardowych (SD), median, wartości górnego i dolnego kwartyla oraz wartości skrajnych (minimum i maksimum). Charakterystyki statystyczne zmiennych skokowych i jakościowych przedstawiono w postaci rozkładów liczbowych i procentowych. W zależności od typu rozkładu, do porównań międzygrupowych charakterystyk statystycznych zmiennych ciągłych wykorzystano test t Studenta lub test U Manna-Whitneya. W zależności od liczebności podgrup, do porównań międzygrupowych rozkładów zmiennych skokowych i jakościowych wykorzystano test chi-kwadrat Pearsona lub dokładny test Fishera. Do porównań wewnątrzgrupowych charakterystyk statystycznych zmiennych ciągłych wykorzystano test kolejności par Wilcoxona. Kierunek i siłę zależności pomiędzy parami zmiennych ciągłych oceniano w oparciu o wartości współczynników korelacji liniowej Pearsona lub współczynników korelacji rang Spearmana. Analizy wielowymiarowe oparto na modelach regresji wielorakiej. Wszystkie obliczenia wykonano przy użyciu oprogramowania Statistica 10 (StatSoft, Stany Zjednoczone) , jako poziom istotności dla wszystkich testów przyjmując wartość $p \leq 0,05$.

3.4. Zagadanienia etyczne

Wszyscy pacjenci i ich opiekunowie prawni (rodzice) zostali poinformowani o celach i przebiegu badań oraz wyrazili pisemną zgodę na udział w projekcie (rodzice oraz dzieci powyżej 16. roku życia). Formularze zgody na przeprowadzenie badań umieszczono w załącznikach.

Badania dzieci zakwalifikowanych do grupy badanej i referencyjnej odbywały się wyłącznie przy okazji wykonywania badań kontrolnych/diagnostycznych. W praktyce, żadnemu pacjentowi zakwalifikowanemu do grupy badanej i referencyjnej nie pobierano krwi do badań wyłącznie w celach naukowych, krew pozyskiwano wyłącznie przy okazji pobierania materiału do badań zlecanych w celach kontrolnych/diagnostycznych.

Badanie zostało wykonane zgodnie z Deklaracją Helsińską *World Medical Association*.

Na przeprowadzenie badań w ramach powyższego projektu zgodę wydała Niezależna Komisja Bioetyczna do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym – NKBBN 129/2011 decyzja z dnia 20.06.2011r.

4. Wyniki

4.1. I etap badania – badanie przekrojowe

4.1.1. Wyniki badań antropometrycznych

4.1.1.1. Masa ciała

Masa ciała u badanych dzieci wahała się od 6,7 kg do 66 kg (od < 3. do > 97. percentyla). Średnia masa ciała wynosiła 30,0kg ± 1,57SD [Tab. 8]. Obserwowano tendencje do niższych średnich wartości masy ciała u dzieci z CF w porównaniu do dzieci z grupy referencyjnej, wartości te były bliskie istotności statystycznej (p = 0,073). Obserwowano istotnie statystycznie różnice między średnią masą ciała chłopców z CF i chłopców z grupy referencyjnej (p = 0,045). Podobnych różnic nie obserwowano porównując dziewczęta z obu grup. Na podstawie analizy statystycznej nie zaobserwowano istotnych różnic w masie ciała dziewcząt i chłopców w grupie dzieci z CF (p = 0,919) [Tab. 9].

Tabela 8 Masa ciała dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

	Płeć	**Grupa z CF n = 75**	**Grupa referencyjna n = 51**	**Istotność różnic**
Masa ciała [kg]	Ogółem	30,00 ± 15,70	40,00 ± 24,00	p = 0,073
	Dziewczęta	30,42 ± 15,86	34,20 ± 20,95	p = 0,625
	Chłopcy	29,75 ± 15,76	43,87 ± 25,02	p = 0,045

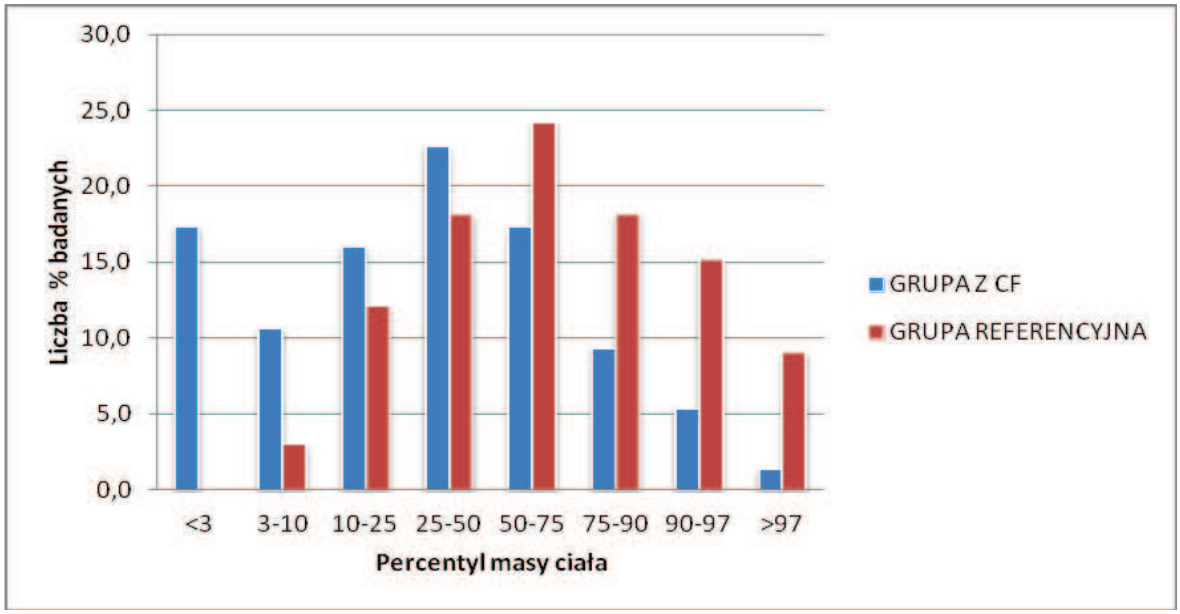
Tabela 9 Porównanie masy ciała w grupie z CF u obu płci

	Dziewczęta n = 33				**Chłopcy n = 42**				**p**
Masa ciała [kg]	średnia	min	max	SD	średnia	min	max	SD	
	30,42	6,68	63,60	15,86	29,75	6,76	66,40	15,7	0,919

Niedobór masy ciała stwierdzono u 28% badanych pacjentów, z czego u 13 dzieci (17,33%) niedożywienie znacznego stopnia (< 3. percent), świadczące o wyniszczeniu organizmu. Wyniki rozkładu centylowego masy ciała zostały zaprezentowane w tabeli 10, a rozkład centylowy masy ciała na ryc 3.

Tabela 10 Porównanie rozkładu centylowych wartości masy ciała w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej

Masa ciała Przedział centylowy	Grupa z CF n = 75		Grupa referencyjna n = 51	
	(n)	(%)	(n)	(%)
< 3	13	17,33	0	0
3 - 10	8	10,67	1	3,03
10 - 25	12	16	4	12,12
25 - 50	17	22,67	6	18,18
50 - 75	13	17,33	8	24,24
75 - 90	7	9,33	6	18,18
90 - 97	4	5,33	5	15,15
> 97	1	1,33	3	9,09



Rycina 3 Rozkład wartości centylowych masy ciała u dzieci z CF i grupy referencyjnej wg. siatek centylowych Palczewska, Niedźwiedzka (IMiDz) r.1999 [78]

4.1.1.2. Wysokość ciała

Wysokość ciała badanych dzieci wahała się od 64 cm do 182 cm. Średnia wysokość ciała wynosiła 128,5cm ± 30,5SD [Tab. 11]. Nie wykazano istotnych różnic średniej wysokości ciała dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej. Obserwowano bliską istotności statystycznej różnicę między średnią wysokością ciała chłopców z grupy z CF, a średnią wysokością chłopców z grupy referencyjnej ($p = 0,058$). Nie obserwowano podobnej tendencji porównując obie grupy dziewcząt.

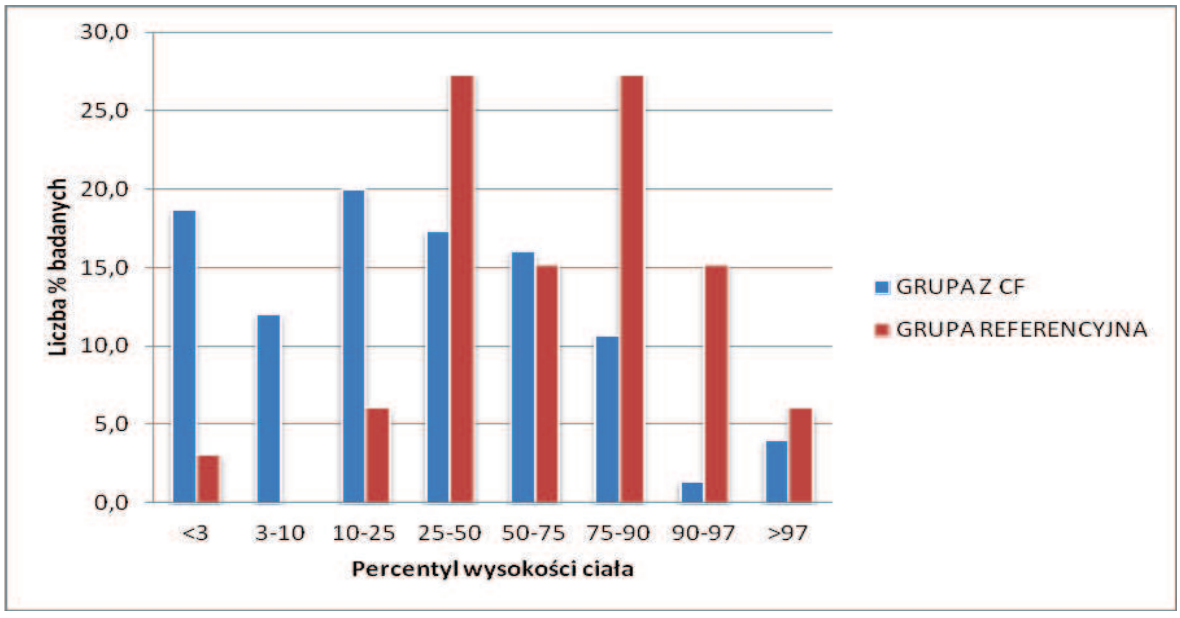
Tabela 11 Wysokość ciała dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

	Płeć	Grupa z CF n = 75	Grupa referencyjna n = 51	Istotność różnic
Wysokość ciała [cm]	**Ogółem**	128,50 ± 30,50	138,00 ± 33,00	p = 0,132
	Dziewczęta	128,98 ± 30,11	129,29 ± 34,95	p = 0,825
	Chłopcy	128,10 ± 31,11	144,13 ± 30,62	p = 0,058

Poważne zaburzenia procesu wzrastania, skutkujące niskorosłością (< 3. percentyla), odnotowano u 14 pacjentów (18,67%). Wyniki rozkładu centylowego wysokości ciała zostały zaprezentowane w tabeli 12, a rozkład centylowy wysokości ciała na ryc 4.

Tabela 12 Porównanie rozkładu centylowych wartości wysokości ciała w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej

Wysokość ciała Przedział centylowy	Grupa z CF n = 75		Grupa referencyjna n = 51	
	(n)	(%)	(n)	(%)
< 3	14	18,67	1	3,03
3 - 10	9	12,00	0	0,00
10 - 25	15	20,00	2	6,06
25 - 50	13	17,33	9	27,27
50 - 75	12	16,00	5	15,15
75 - 90	8	10,67	9	27,27
90 - 97	1	1,33	5	15,15
> 97	3	4,00	2	6,06



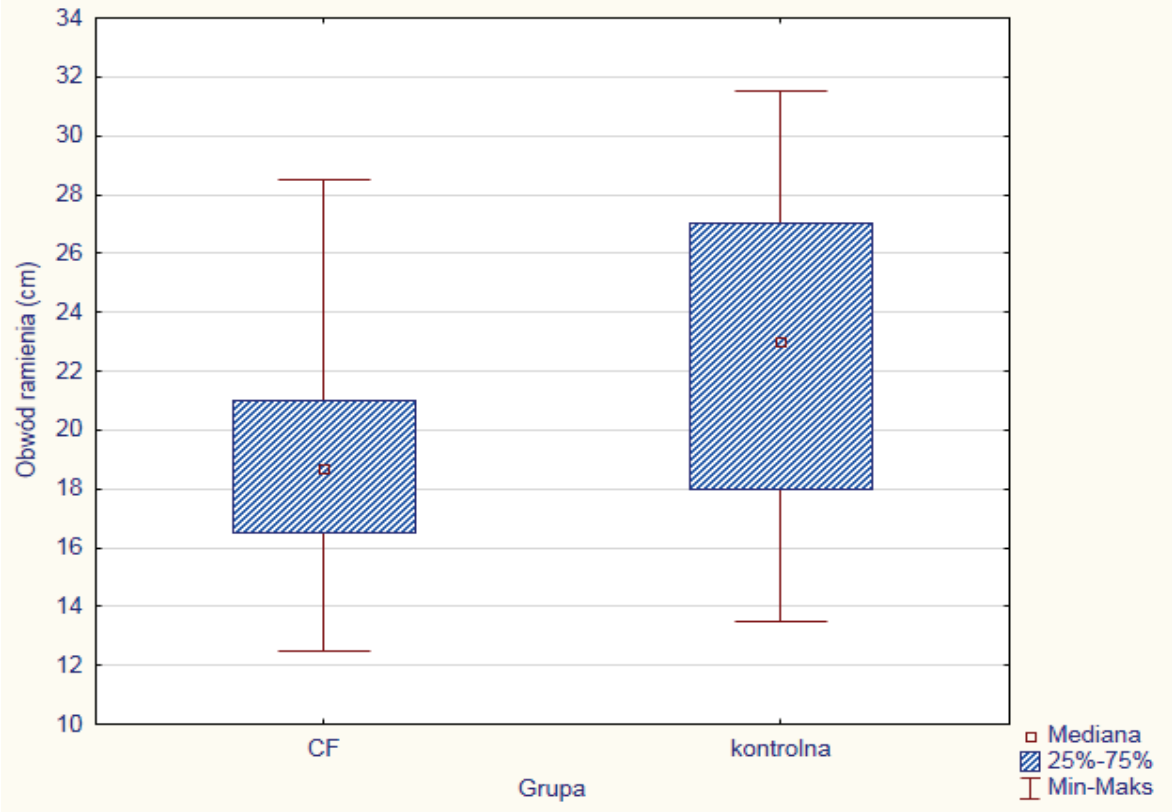
Rycina 4 Rozkład wartości centylowych wysokości ciała u dzieci z CF i grupy referencyjnej wg. siatek centylowych Palczewska, Niedźwiedzka (IMiDz), r.1999 [78]

4.1.1.3. Obwód ramienia

Obwód ramienia dzieci z mukowiscydozą wyniósł od 12,5 do 29,0 cm. Średni obwód ramienia wyniósł 19,10 ± 3,30SD [Tab. 13]. Średni obwód ramienia był mniejszy u dzieci z grupy badanej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami, a wartości te były istotne statystycznie (p = 0,019) [Ryc. 5], obserwowano analogiczne różnice u dzieci poszczególnych płci. Nie wykazano istotnej różnicy w średnich obwodach ramienia u dziewcząt i chłopców w grupie badanej z CF (p = 0,970).

Tabela 13 Średni obwód ramienia u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

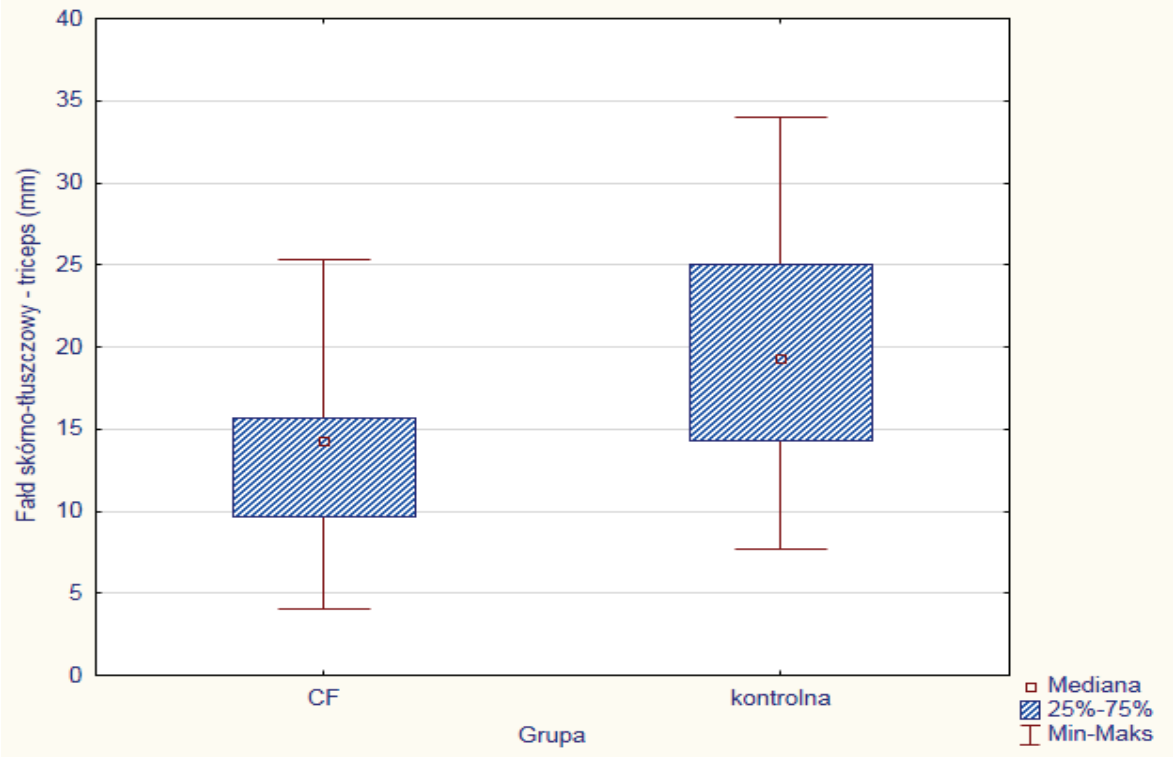
	Płeć	**Grupa z CF n = 75**	**Grupa referencyjna n = 51**	**Istotność różnic**
Obwód ramienia [cm]	Ogółem	19,10 ± 3,30	22,00 ± 5,00	p = 0,0190
	Dziewczęta	19,16 ± 3,51	20,59 ± 5,17	p = 0,0051
	Chłopcy	19,10 ± 3,16	22,92 ± 5,53	p = 0,0000



Rycina 5 Porównanie średniego obwodu ramienia u dzieci z grupy dzieci z CF i grupy referencyjnej (p = 0,019)

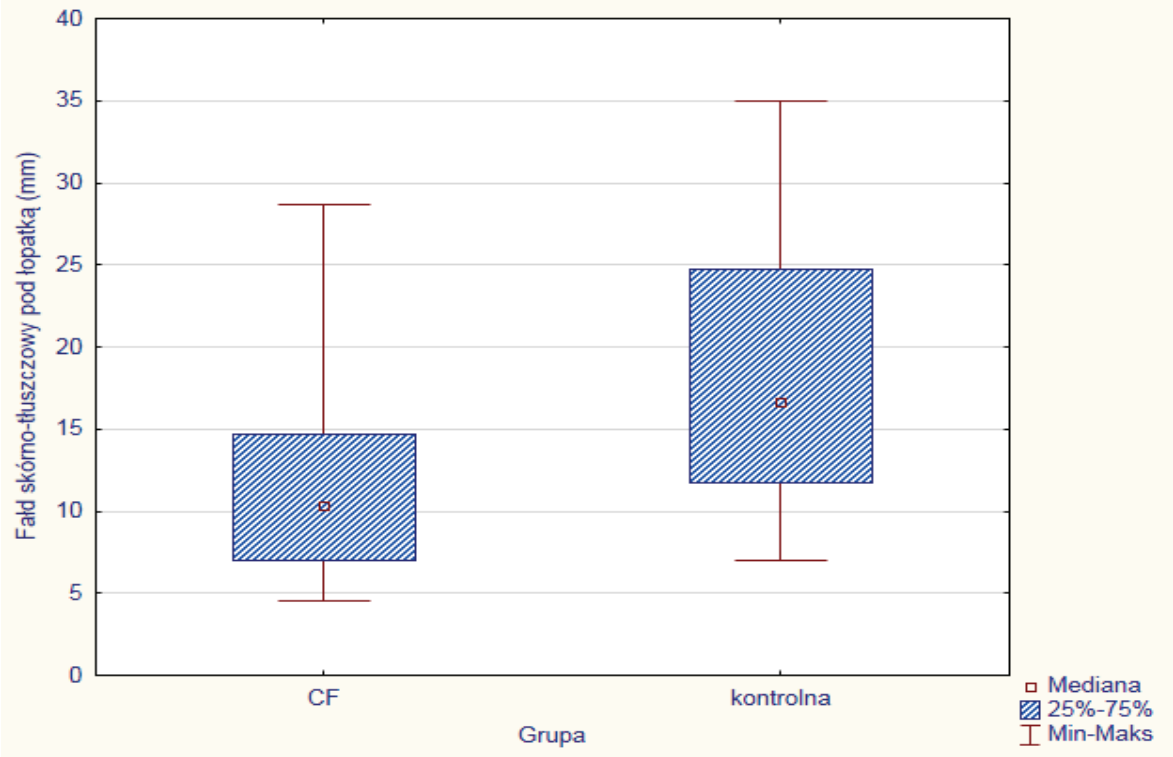
4.1.1.4. Grubość fałdów skórno –tłuszczowych

Fałd nad mięśniem trójgłowym ramienia – w grupie badanej wyniósł od 4,0 do 25 mm (średnio 13,6 mm ± 4,5SD). Średnia grubość fałdu była istotnie mniejsza niż u dzieci z grupy referencyjnej (p = 0,000) [Ryc 6]. Nie wykazano istotnej różnicy w średnich grubościach fałdów u dziewcząt i chłopców w grupie badanej (p = 0,157).



Rycina 6 Porównanie średnich grubości fałdu skórno-tłuszczowego nad tricepsem u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)

Fałd pod łopatką - u dzieci z mukowiscydozą wyniósł od 12,5 do 29,0 cm. Średnia grubość fałdu wyniosła 11,60 ± 5,20SD. Średnia grubość fałdu była mniejsza u dzieci z grupy badanej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami, a wartości te były istotne statystycznie (p = 0,000) [Ryc. 7].



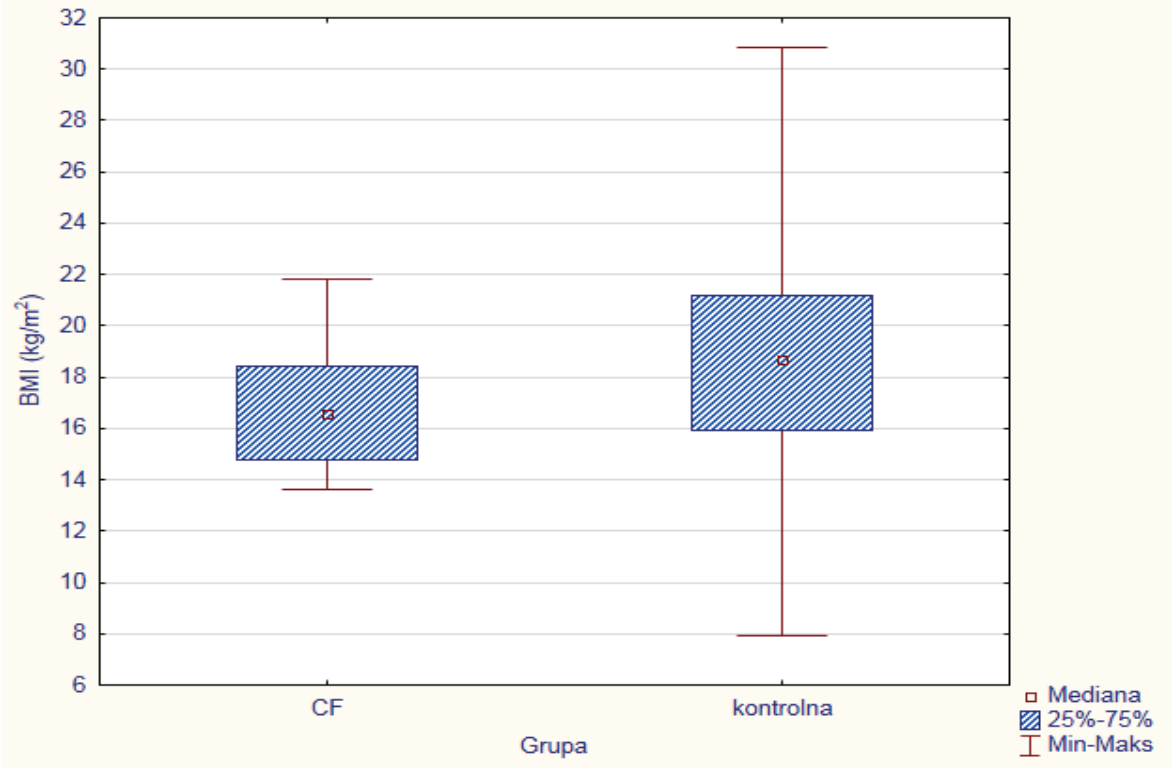
Rycina 7 Porównanie średnich grubości fałdu skórno-tłuszczowego pod łopatką u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)

4.1.1.5. Wskaźnik stanu odżywienia – BMI

Do oceny stanu odżywienia oraz rozwoju fizycznego badanych dzieci zastosowano powszechnie stosowany wskaźnik BMI, który wyniósł od 13,6 do 22,0 kg/m^2. Średnio wyniósł 16,80 kg/m^2 ± 2,20SD. Wartość wskaźnika BMI była niższa u dzieci z grupy badanej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami, a różnice te były istotne statystycznie (p = 0,015) [Ryc. 8]. Analiza statystyczna wykazała, że dziewczęta z grupy badanej miały istotnie niższe średnie wartości wskaźnika BMI w porównaniu z dziewczętami z grupy referencyjnej (p = 0,0143). Analogicznie u chłopców z grupy badanej obserwowano niższe wartości wskaźnika BMI niż u chłopców z grupy referencyjnej (p=0,0179) [Tab. 14].

Tabela 14 Porówanie średnich wartości BMI u dzieci z grupy badanej i grupy referencyjnej

	Płeć	**Grupa z CF n = 75**	**Grupa referencyjna n = 51**	**Istotność różnic**
BMI [kg/m^2]	Ogółem	16,80 ± 2,20SD	19,00 ± 4,00SD	p = 0,0150
	Dziewczęta	16,76 ± 2,32SD	18,02 ± 3,17SD	p = 0,0143
	Chłopcy	16,79 ± 2,12SD	19,20 ± 5,25SD	p = 0,0179



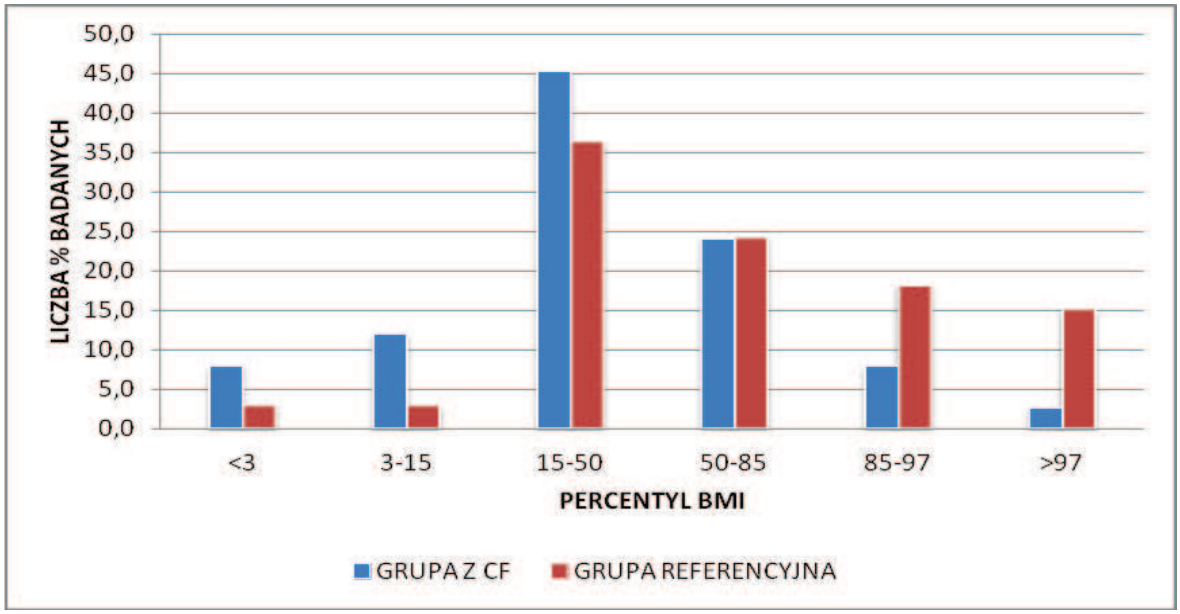
Rycina 8 Porównanie średnich wartości wskaźnika BMI u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p=0,015)

Stan odżywienia oceniono według wcześniej przyjętych kryteriów WHO dla wartości centylowych BMI. Niedobór masy ciała obserwowano u 20% badanych pacjentów, natomiast u aż

8 dzieci (8%) stwierdzono znacznego stopnia niedożywienie (BMI ≤ 3. percentyla). Wyniki centylowego rozkładu wartości BMI i analiza porównanwcza rozkładu centylowego wskaźnika BMI w grupie z CF oraz grupie referencyjnej zostały zaprezentowane w tabeli 15 oraz na rycinie 9.

Tabela 15 Porównanie rozkładu centylowych wartości wskaźnika BMI w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej

BMI	**Grupa z CF (n = 75)**		**Grupa referencyjna (n = 33)**	
Przedział centylowy	**(n)**	**(%)**	**(n)**	**(%)**
≤ 3	6	8	1	3,03
3 - 15	9	12	1	3,03
15 - 50	34	45,3	12	36,4
50 - 85	18	24	8	24,24
85 - 97	6	8	6	18,18
≥ 97	2	2,7	5	15,15



Rycina 9 Rozkład wartości centylowych wskaźnika BMI wg siatek centylowych WHO u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

4.1.2. Ocena składu ciała

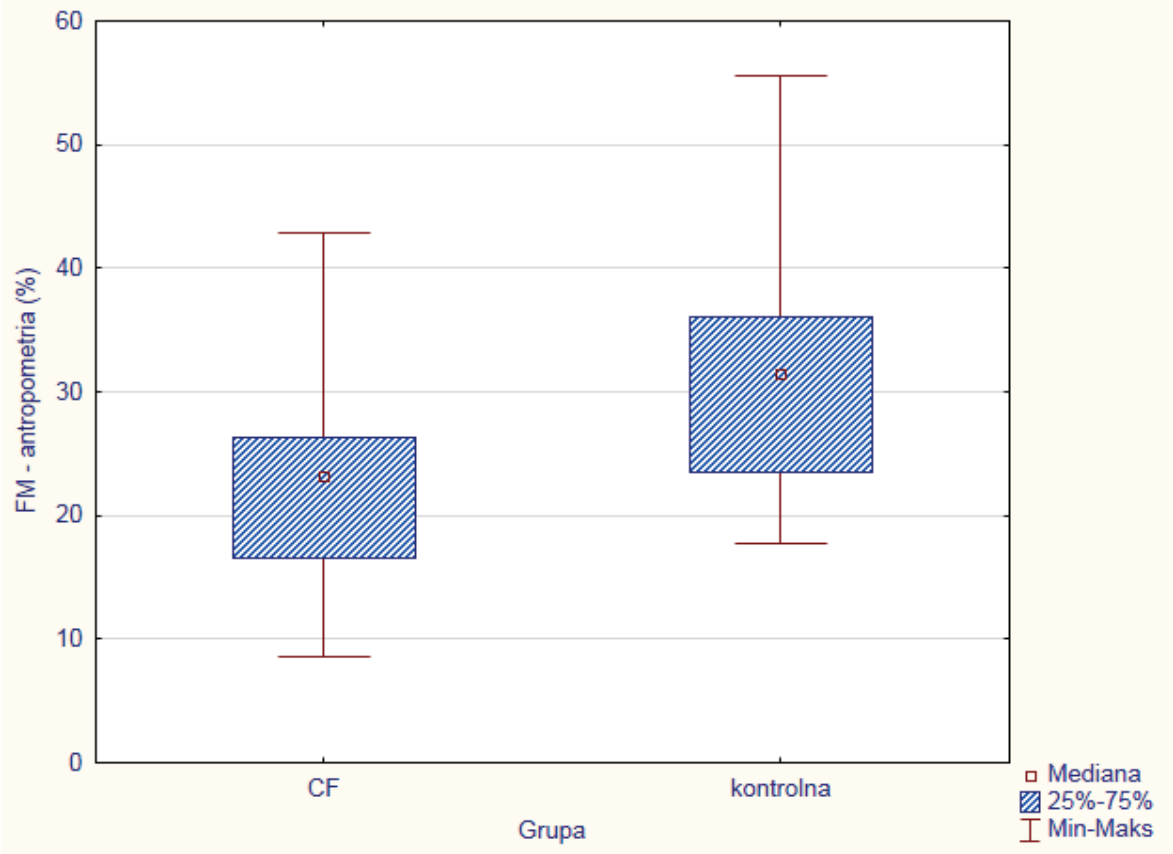
4.1.2.1. Wyniki badania antropometrycznego

Na podstawie wzorów wg Slaughter'a [189] obliczono procentową zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie. Wyniosła ona od 8,5 do 43% (średnia wartość 22,5% ± 6,5SD). Średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej różnił się istotnie w obu badanych grupach (p = 0,000) [Tab. 16]. W grupie dzieci z CF był znacznie niższy niż w grupie referencyjnej wynosił odpowiednio: 22,5% ± 6,5SD oraz 31,0% ± 9,0SD [Ryc. 10]. W sposób pośredni

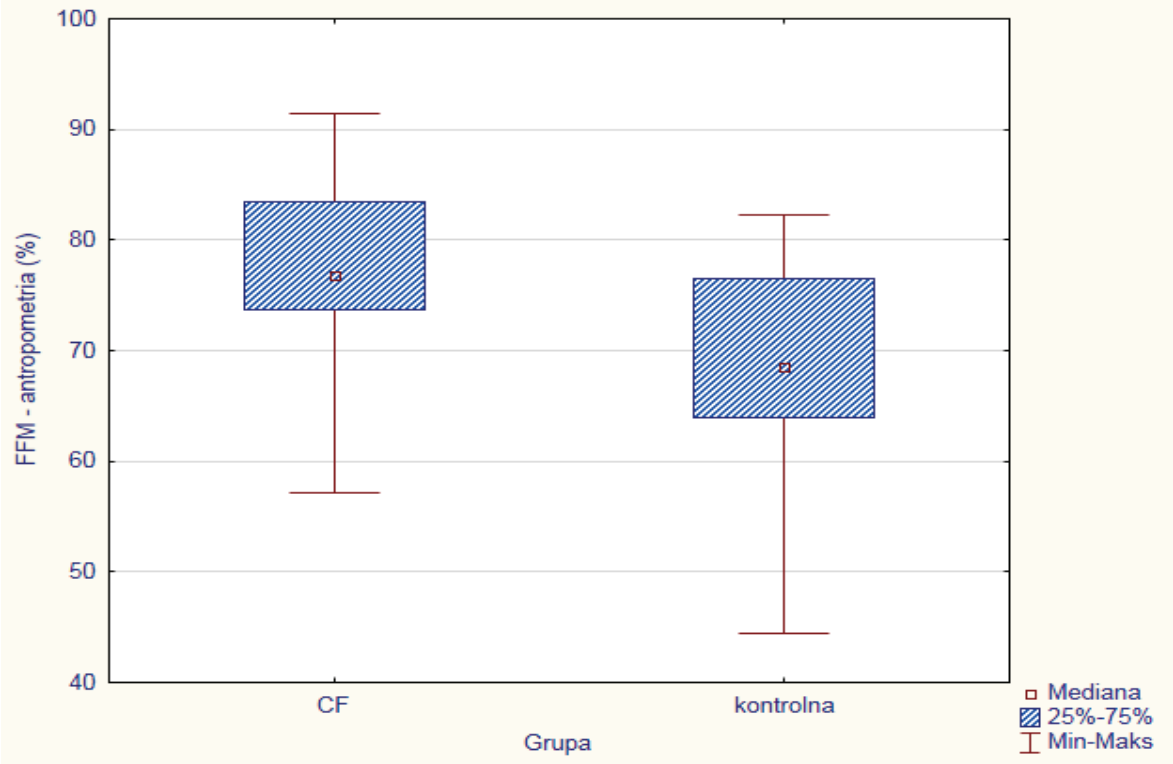
(FFM = 100% - FM) obliczono procentową zawartość beztłuszczowej masy ciała. Średni procentowy udział FFM był wyższy u dzieci z CF i wynosił 77,5% ± 6,5SD w stosunku do grupy referencyjnej odpowiednio 69,0% ± 9,0SD, a różnica była istotna statystycznie (p = 0,000) [Ryc. 11]. Na podstawie wzoru Frisancho [190] obliczono obwód mięśni ramienia, który informuje o beztłuszczowej masie ciała obliczonej za pomocą pomiarów antropometrycznych. Wartość wskaźnika Frisancho wahały się od 10,0 do 22,0; średnia wartość wynosiła 14,9 ± 2,7SD w grupie badanej. Nie wykazano różnic pomiędzy średnią wartością wskaźnika Frisancho u dzieci z grupy badanej i w grupie referencyjnej (p = 0,222).

Tabela 16 Porównanie parameterów składu ciała uzyskanych metodą antropometrii u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

Parametr	Grupa z CF			Grupa referencyjna			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
FM [%]	75	22,5	6,5	33	31,0	9,0	0,000
FFM [%]	75	77,5	6,5	33	69,0	9,0	0,000
Wskaźnik Frisancho	75	14,9	2,7	33	16,0	4,0	0,222



Rycina 10 Porównanie średniego procentowego udziału masy tłuszczowej w organizmie, uzyskanej metodą antropometrii u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)



Rycina 11 Porównanie średniego procentowego udziału masy beztłuszczowej w organizmie, uzyskanej metodą antropometrii u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)

W grupie dzieci z CF nie obserwowano różnic w zakresie procentowej zawartości FM, FFM oraz wartości wskaźnika Frisancho między dwiema płciami [Tab. 17].

Tabela 17 Porównanie parameterów składu ciała uzyskanych metodą antropometrii w zależności od płci u dzieci z CF

Zmienna zależna	Chłopcy n = 42			Dziewczęta n = 33			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
FM [%]	42	21,64	6,36	33	23,51	6,73	0,206
FFM [%]	42	78,36	6,36	33	76,49	6,73	0,206
Wskaźnik Frisancho	42	15,10	2,79	33	14,57	2,50	0,475

4.1.2.2. Wyniki badania BIA

Określono stopień udziału tkanki tłuszczowej w ogólnej masie ciała przy pomocy impedancji bioelektrycznej. Zawartość tkanki tłuszczowej w grupie badanej wyniosła od 0,9 do 18 kg, co stanowiało odpowiednio od 7,1 do 35% całkowitej masy ciała. W badanych grupach średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej nie różnił się istotnie i wynosił odpowiednio w grupie badanej: 17,6% ± 6,0SD, w grupie referencyjnej: 19,0% ± 8,0SD (p = 0,311). W przypadku masy tłuszczowej wyrażonej w kg, obserwowano różnice bliskie istotności w obu grupach (p = 0,090). Obserwowano tendencję do wyższych wartości średniej zawartość tkanki tłuszczowej w grupie referencyjnej [Tab. 18]. Zawartość masy beztłuszczowej u dzieci z CF wynosiła od 5,6 do 60,0 kg co stanowiło odpowiednio od 2,6 do 91,0% całkowitej masy ciała. W badanych grupach

średni procentowy udział masy beztłuszczowej nie różnił się istotnie i wynosił odpowiednio w grupie badanej 81,2% ± 10,9SD oraz 81,0% ± 8,0SD w grupie referencyjnej (p = 0,424). Obserwowano tendencję do niższych średnich wartości całkowitej wody organizmu TBW [L] w grupie dzieci z CF w stosunku do dzieci z grupy referencyjnej, różnice te były bliskie istotności (p = 0,080), przy jednoczesnym obniżeniu jej komponenty wewnątrzkomórkowej ICW [L] u dzieci z CF w stosunku do zdrowych rówieśników (p = 0,049).

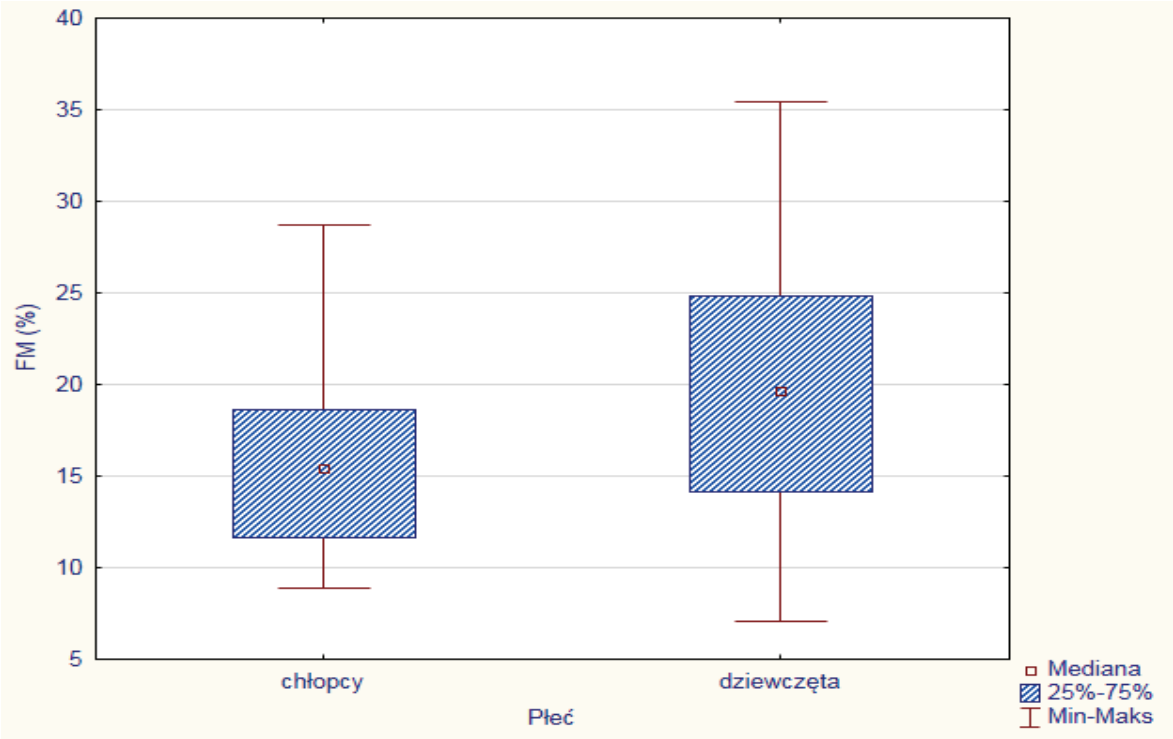
Tabela 18 Porównanie parametrów składu ciała uzyskane metodą bioimedancji elektrycznej u dzieci w grupie z CF i referencyjnej

Parametry składu ciała	Grupa z CF (n = 75)				Grupa referencyjna (n = 33)				p
	Średnia ± SD	MIN	MAX	Mediana	Średnia ± SD	MIN	MAX	Mediana	
FFM [kg]	25,2 ± 12,5	5,6	60,0	23,5	32,0 ± 18,0	8,3	63,0	27,8	0,108
FFM [%]	81,2 ± 10,9	2,6	91,0	83,6	81,0 ± 8,0	65,5	96,0	81,6	0,424
FM [kg]	5,80 ± 3,80	0,9	18,0	5,2	9,0 ± 7,0	0,5	27,0	7,2	0,090
FM [%]	17,60 ± 6,00	7,1	35,0	16,3	19,0 ± 8,0	3,8	35,0	18,4	0,311
TBW [L]	18,60 ± 8,60	4,0	41,0	17,2	24,0 ± 12,0	6,8	46,0	21,0	0,080
TBW [%]	62,20 ± 6,70	46,6	87,0	61,6	62,0 ± 8,0	51,1	84,0	59,8	0,243
ECW [L]	7,10 ± 3,70	1,5	18,0	6,5	9,0 ± 4,0	2,9	18,0	7,0	0,175
ECW [%]	38,10 ± 4,10	30,5	50,0	37,6	37,0 ± 5,0	29,3	48,0	36,0	0,182
ICW [L]	11,50 ± 5,10	2,5	23,0	10,9	15,0 ± 8,0	3,9	32,0	13,9	0,049
ICW [%]	61,90 ± 4,1	49,8	70,0	62,4	63,0 ± 5,0	51,8	71,0	64,0	0,182
ECW/ICW	0,60 ± 0,10	0,4	1,0	0,6	1,0 ± 0,0	0,1	1,0	0,6	0,184
Masa mięśniowa [kg]	10,60 ± 6,30	1,8	9,0	29,0	14,0 ± 9,0	2,5	30,0	11,9	0,133

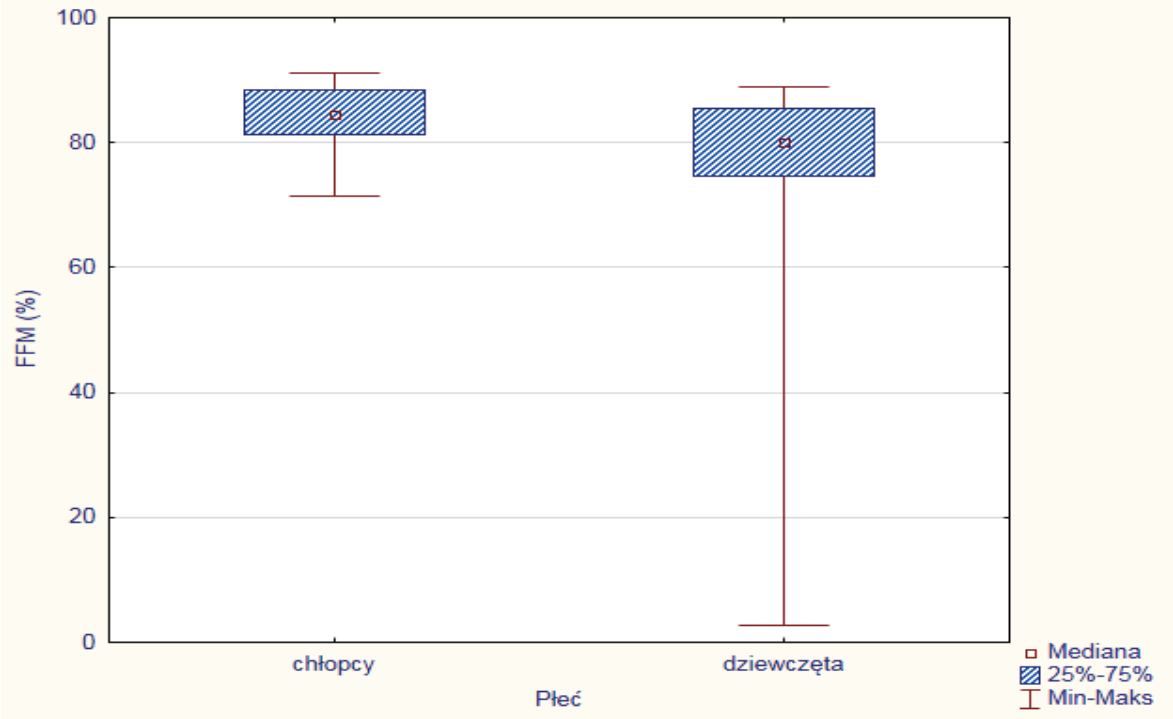
Średni procentowy udział masy tłuszczowej różnił się istotnie u poszczególnych płci (p = 0,006) [Ryc. 12]. Dziewczęta miały średnio większą zawartość tkanki tłuszczowej w organiźmie niż chłopcy [Tab. 19]. Odwrotnie było w przypadku masy beztłuszczowej ciała. W tym przypadku chłopcy charakteryzowali się większą średnią procentową zawartością masy beztłuszczowej w organizmie niż dziewczęta [Ryc. 13]. Różnica ta była istotna statystycznie [Tab. 19].

Tabela 19 Porównanie parameterów składu ciała uzyskanych metodą bioimpedancji w zależności od płci u dzieci z CF

Zmienna zależna	Chłopcy			Dziewczęta			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
FM [%]- BIA	42	15,78	4,79	33	19,92	6,72	0,006
FFM [%] - BIA	42	84,22	4,79	33	77,35	14,82	0,001



Rycina 12 Porównanie średniego procentowego udziału masy tłuszczowej w organizmie, uzyskanej metodą BIA w zależności od płci u dzieci z CF (p = 0,006)



Rycina 13 Porównanie średniego procentowego udziału masy beztłuszczowej w organizmie, uzyskanej metodą BIA w zależności od płci u dzieci z CF (p = 0,001)

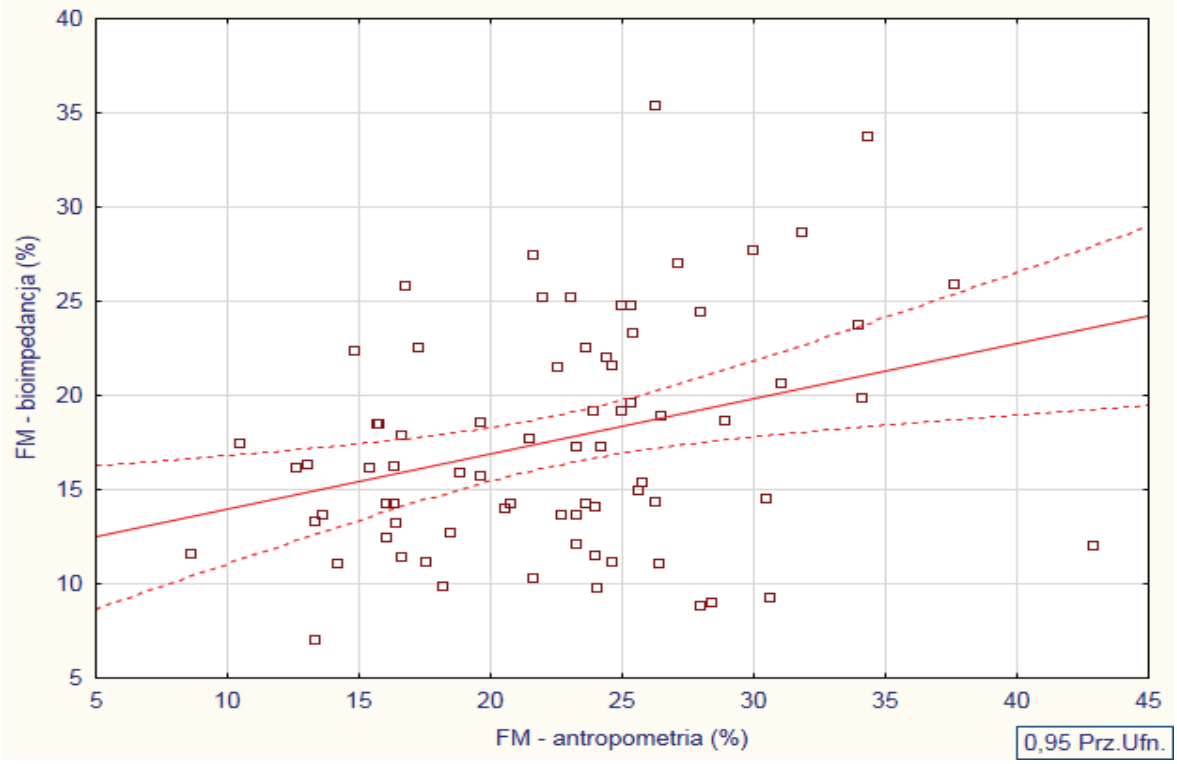
4.1.2.3. Ocena porównawcza dwóch metod oceny składu ciała u badanych pacjentów

U pacjentów dokonano oceny składu ciała przy pomocy dwóch metod: antropometrii oraz bioimpedancji elektrycznej. Zaobserwowano słabą korelację między wynikami pomiarów dwiema metodami masy beztłuszczowej FFM [%] i masy tłuszczowej FM [%] , z kolei wskaźnik Frisancho

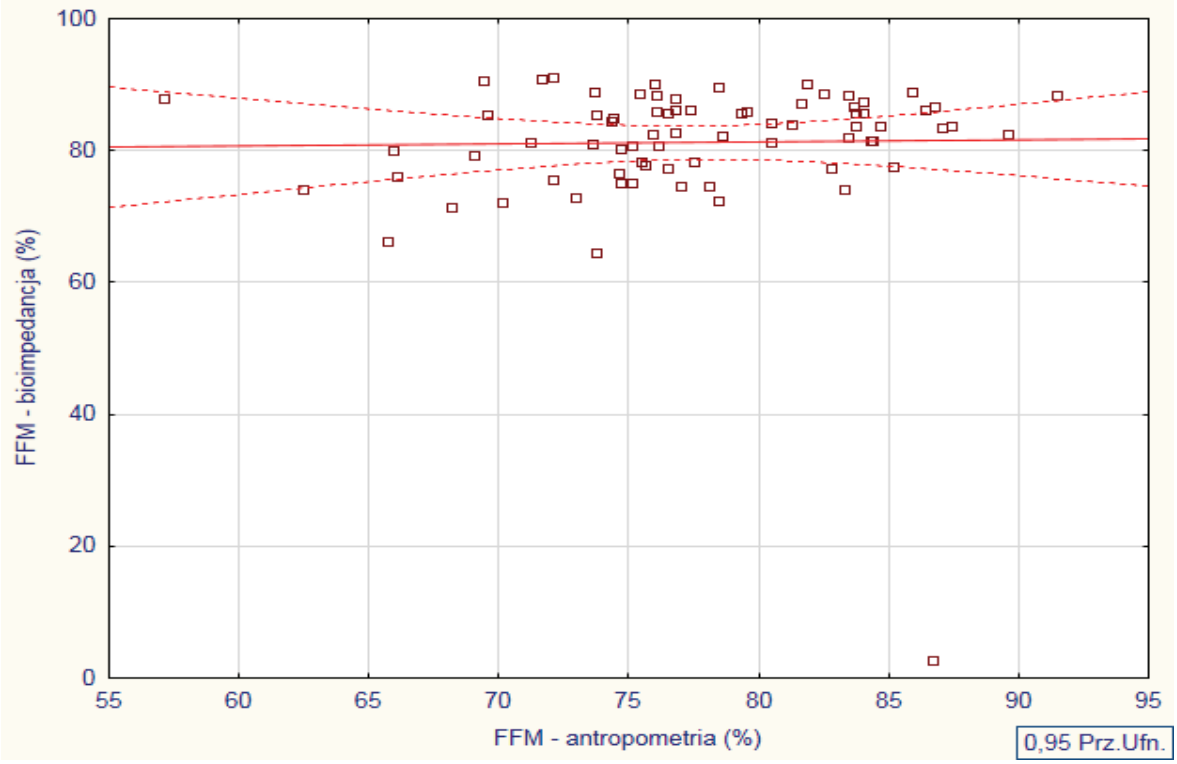
wykazuje silną dodatnia korelację z masą mięśniową wyrażona w kg [Tab. 20]. Z korelacji danych wynika, że badanie antropometrii i bioimpedancji w zakresie oznaczania tłuszczowej i beztłuszowej masy ciała dają zgodne wyniki tylko odpowiednio w o. 22% i 29%. Korelacja wskaźnika Frisancho z masą mięśniową wyrażoną w kg dają bardziej obiecujące wyniki. W tym przypadku zgodność wyników wynosi średnio ok. 82%. [Ryc. 14 - 16].

Tabela 20 Analiza korelacji dwóch metod oceny poszczególnych komponent składu ciała (korelacja porządku rang Spearmana)

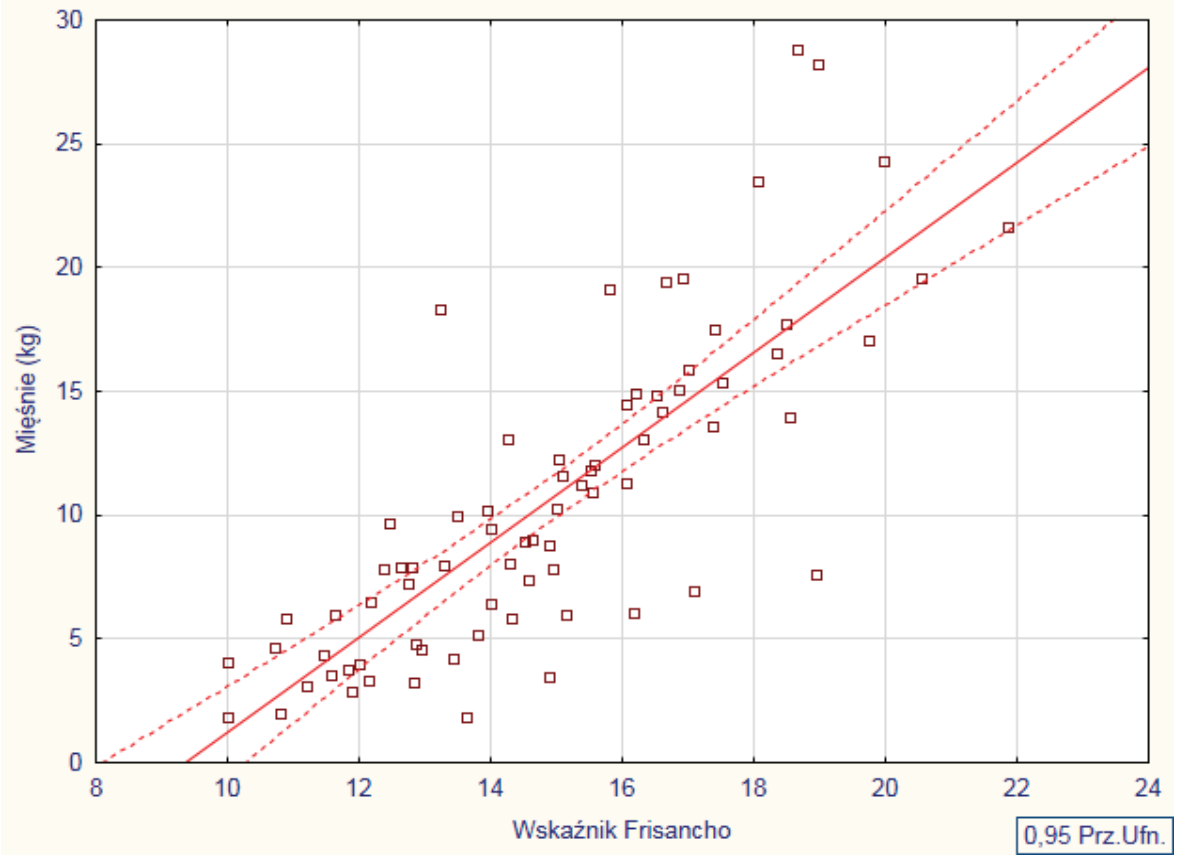
Poszczególne parametry składu ciała	n	R	p
FM [%] (antropometria) & FM [%] (bioimpedancja)	75	0,288	0,012
FFM [%] (antropometria) & FFM [%] (bioimpedancja)	75	0,219	0,059
Wskaźnik Frisancho (antropometria) & Masa mięśniowa [kg] (bioimpedancja)	75	0,817	0,000



Rycina 14 Analiza korelacji między wartościami procentowymi tłuszczowej masy ciała uzyskanymi metodą antropometrii i bioimpedancji (p = 0,012; R = 0,288)



Rycina 15 Analiza korelacji między wartościami procentowymi beztłuszczowej masy ciała uzyskanymi metodą antropometrii i bioimpedancji (p = 0,059; R = 0, 219)



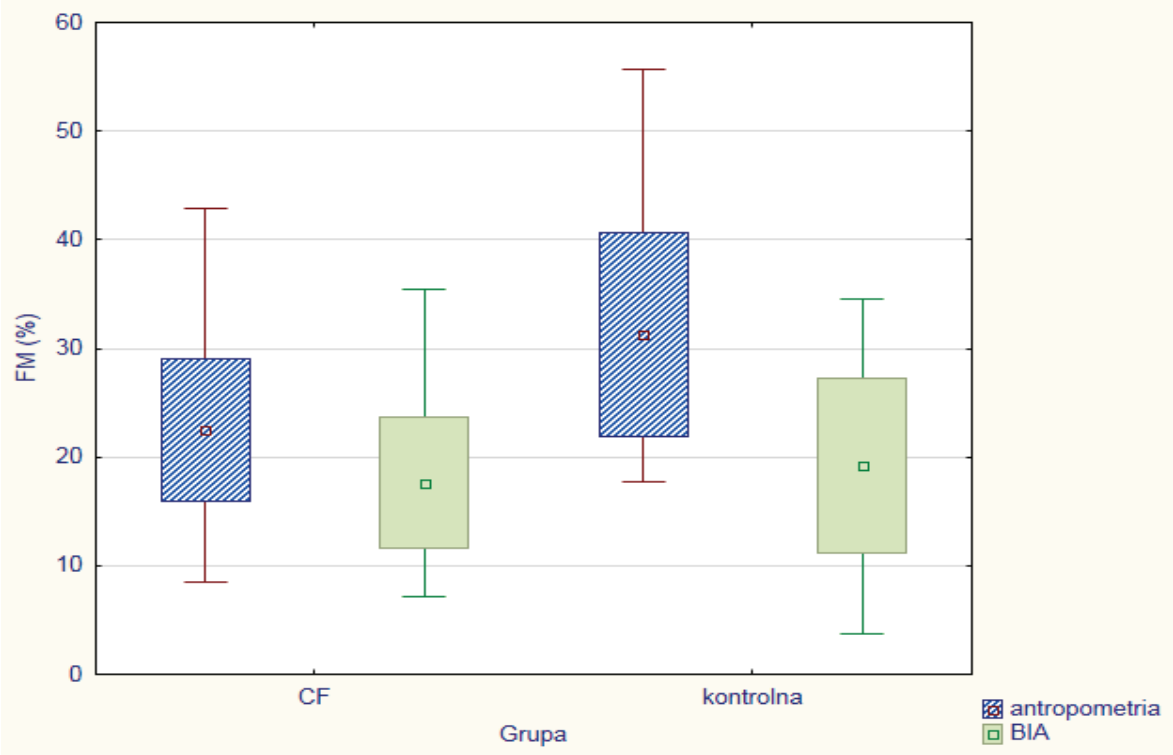
Rycina 16 Analiza korelacji między wskaźnikiem Frischano uzyskanym metodą antropometrii a masą mięśniową uzyskaną metodą bioimpedancji (p = 0,000; R = 0,817)

Zestawienie parametrów składu ciała, uzyskanych dwiema metodami pomiarowymi przedstawiono w Tabeli 21. Stwierdzono rozbieżność między wartościami FM% uzyskanymi

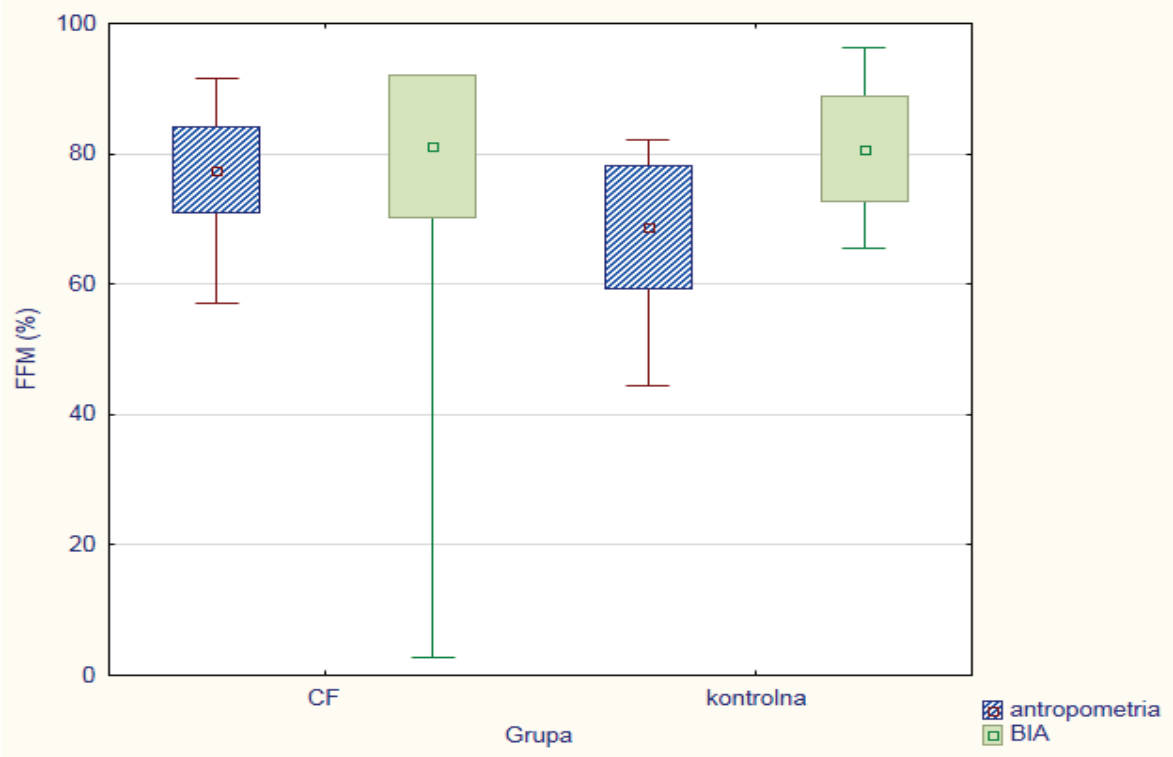
dwiema metodami, podobne różnice obserwowano w zakresie FFM%. Kierunek różnic między grupą badaną i grupą referencyjną zarówno w zakresie wartości FM% i FFM % uzyskanych dwiema metodami był podobny. Wartości procentowej zawartości tkanki tłuszczowej uzyskane metodą antropometrii były wyższe niż wartości oznaczone przy pomocy biooimpednacji zarówno w grupie badanej jak i referencyjnej. Różnica w oznaczeniach FM% dwiema metodami wyraźniej zaznaczona była w grupie referencyjnej [Ryc. 17]. W zakresie beztłuszczowej masy ciała obserwowano mniejsze różnice wynikające z użycia dwóch metod. Jednakże wartości FFM% uzyskane metoda antropometrii były niższe, a wyraźniej tendencję tą obserwowano w grupie referencyjnej [Ryc. 18].

Tabela 21 Porównanie uzyskanych wyników w ocenie parametrów składu ciała metodą antropometrii i bioimpedancji

Metoda oceny składu ciała	Skład ciała	Grupa z CF (n = 75)	Grupa referencyjna (n = 33)	Istotność różnic
Antropometria	FM [%]	22,47 ± 6,54	31,23 ± 9,4	p = 0,0000
	FFM [%]	77,53 ± 6,54	68,77 ± 9,4	p = 0,0000
	Wskaźnik Frisancho	14,9 ± 2,7	16,0 ± 4,0	p = 0,2220
BIA	FM [%]	17,60 ± 6,04	19,23 ± 8,06	p = 0,0890
	FFM [%]	81,20 ± 10,93	80,77 ± 8,06	p = 0,0890
	Masa mięśniowa [kg]	10,6 ± 6,3	14,0 ± 9,0	p = 0,1330



Rycina 17 Porównanie wyników uzyskanych w ocenie średniej procentowej zawartości masy tłuszczowej w obu badanych grupach metodą antropometrii i bioimpedancji



Rycina 18 Porównanie wyników uzyskanych w ocenie średniej procentowej zawartości masy beztłuszczowej w obu badanych grupach metodą antropometrii i bioimpedancji

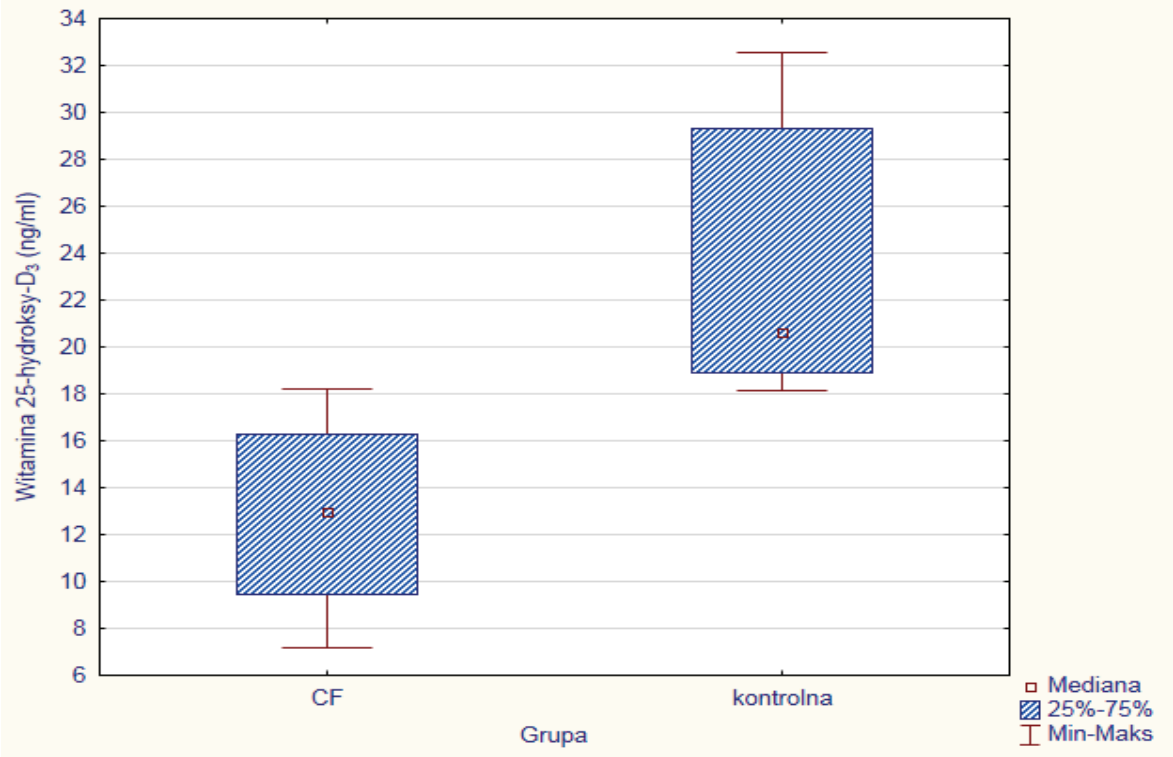
4.1.3. Wyniki badań laboratoryjnych

4.1.3.1. Ocena stężenia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, 25(OH)D_3, E, K1) w surowicy.

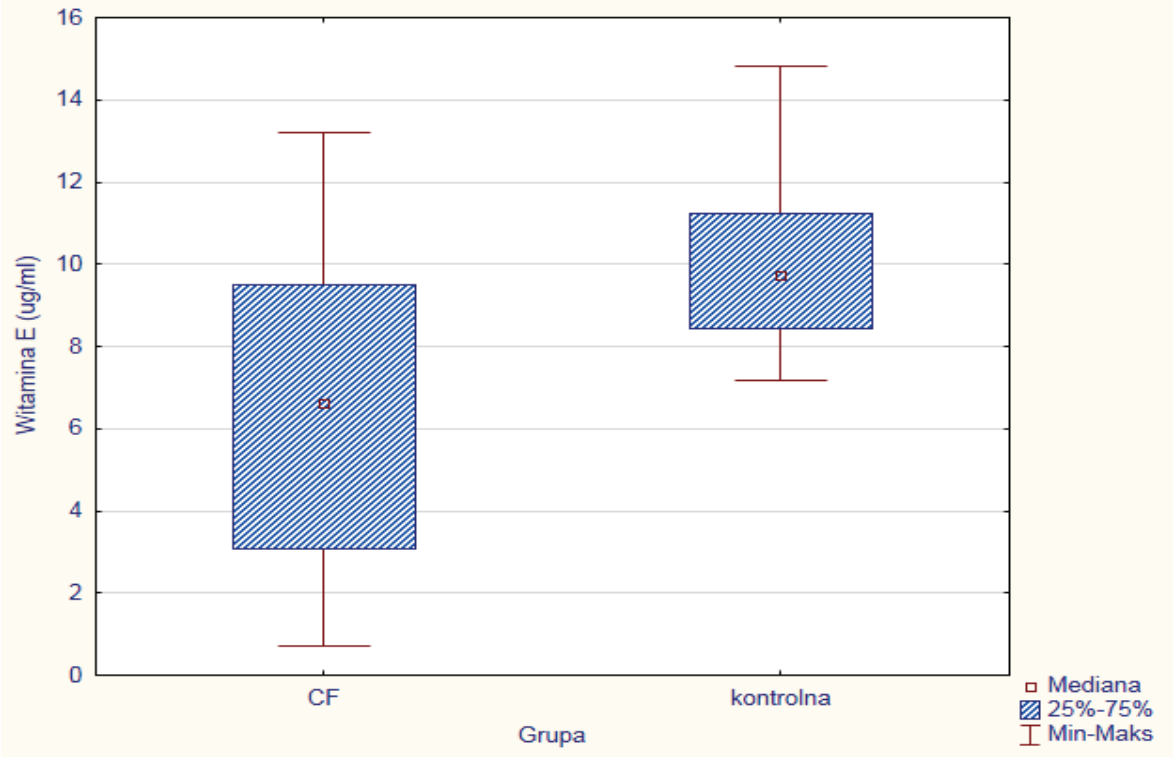
Na podstawie obliczeń statystycznych wykazano, istotnie statystycznie obniżenie średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3, witaminy E oraz witaminy K1 w surowicy u dzieci chorych w stosunku do dzieci zdrowych [Tab. 22]. U dzieci z CF wartości 25(OH)D_3 oscylowały od 7,2 do 18,0 SD ng/ml, średnie stężenie w surowicy wynosiło 13,0 ± 3,3 ng/ml [Ryc. 19]. Natomiast średnie stężenie witaminy E w tej samej grupie pacjentów wynosiło 6,1 ± 3,4SD µg/ml, najniższe stężenie w surowicy wynosiło 0,7 ug/ml, a najwyższe 13,0 ng/ml [Ryc. 20]. Stężenie witaminy K1 u dzieci z mukowiscydozą wyniosło od 0,2 do 1,0 ng/ml. Średnie stężenie tej witaminy w surowicy wyniosło 0,4 ± 0,2SD ng/ml [Ryc. 21]. Nie wykazano istotnych różnic w zakresie stężenia witaminy A pomiędzy grupami.

Tabela 22 Porównanie średniego stężenia witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej

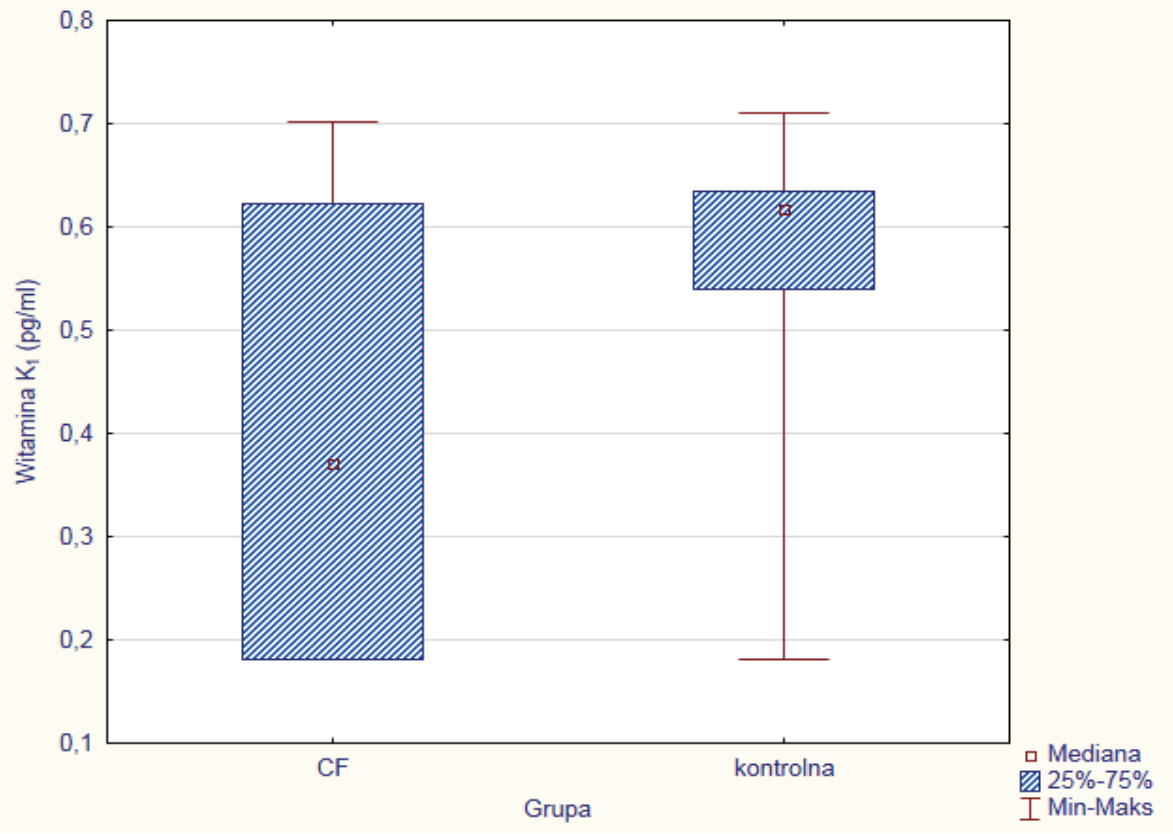
Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach	Grupa dzieci z CF (n=74)		Grupa referencyjna (n=33)		p
	Średnia	SD	Średnia	SD	
Witamina A [µg/ml]	0,8	0,2	1,0	0,0	0,089
25(OH)D_3 [ng/ml]	13,0	3,3	24,0	5,0	0,000
Witamina E [µg/ml]	6,1	3,4	10,0	2,0	0,000
Witamina K1 [ng/ml]	0,4	0,2	1,0	0,0	0,026



Rycina 19 Porównanie średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3 w surowicy u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)



Rycina 20 Porównanie średniego stężenia witaminy E w surowicy u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,000)



Rycina 21 Porównanie średniego stężenia witaminy K1 w surowicy u dzieci z grupy z CF i grupy referencyjnej (p = 0,026)

4.1.3.2. Ocena stężenia witaminy C w moczu

U dzieci z CF średnie stężenie witaminy C w moczu wynosiło 1,3 ± 0,6SD ug/ml. Najniższe jej stężenie wynosiło 0,5 ug/ml, a najwyższe 3,0 ug/ml. Nie wykazano istotnej różnicy średniego stężenia witaminy C w moczu w obu badanych grupach [Tab. 23].

Tabela 23 Porównanie średniego stężenia witaminy C w moczu w obu badanych grupach

Witamina C w moczu [µg/ml]	**Grupa dzieci z CF (n=64)**	**Grupa referencyjna (n=32)**	**p**
	Średnia ± SD	**Średnia ± SD**	
	1,3 ± 0,6	1,1 ± 1,1	0,175

4.1.3.3. Ocena profilu kwasów tłuszczowych we krwi

Przeanalizowano profil kwasów tłuszczowych obecnych na krwinkach czerwonych w obu grupach. Średnia procentowa zawartość kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych we krwi dzieci z obu grup nie różniła się od siebie. Średnia procentowa zawartość kwasów n- 6 i n- 3 we krwi była podobna w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej. Nie obserwowano istotnych różnic w zakresie ilorazu kwasów n- 6 do n- 3 [Tab. 24].

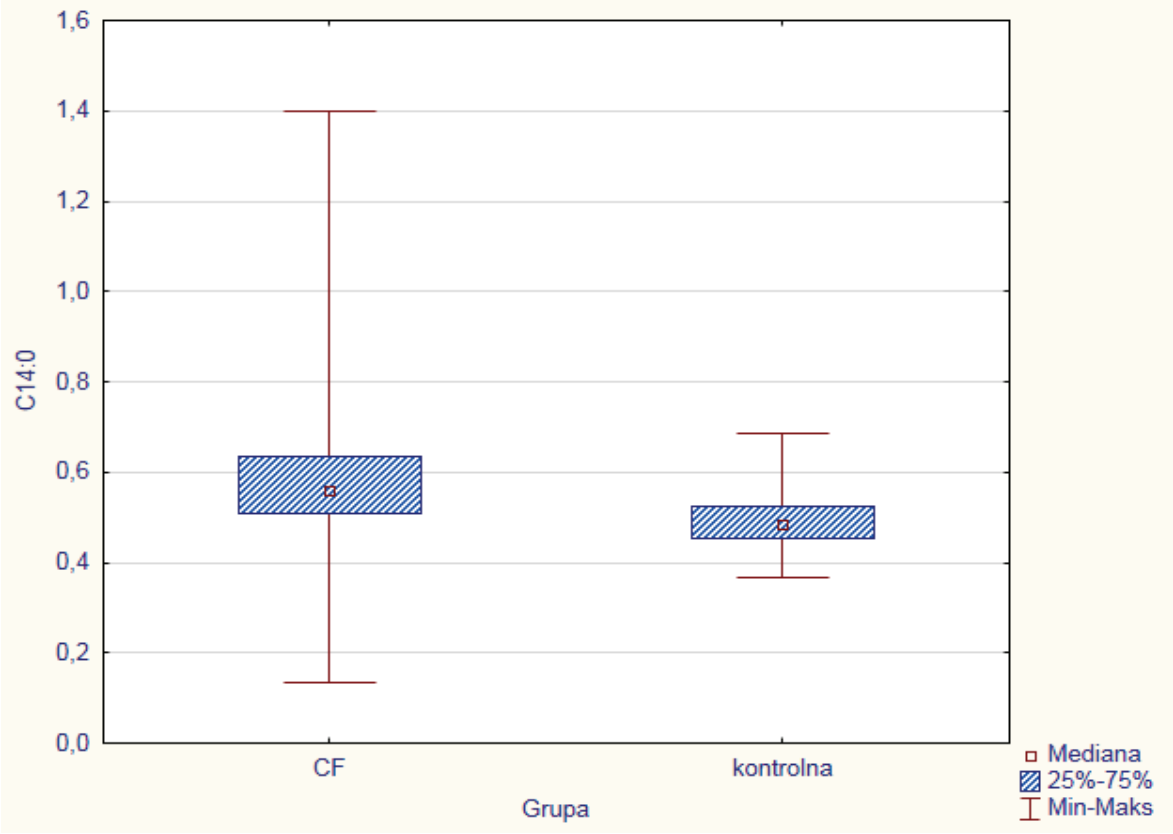
Tabela 24 Porównanie średniego procentowego udziału kwasów tłuszczowych według nasycenia w obu grupach

Kwasy tłuszczowe [%]		Grupa dzieci z CF	Grupa referencyjna	Istotność statystyczna
		Średnia ± SD	Średnia ± SD	p
Kwasy tłuszczowe wielonienasycone	n- 3	7,64 ± 1,71	7,82 ± 1,63	0,892
	n- 6	24,48 ± 2,52	25,68 ± 1,53	0,214
	n– 6 / n- 3	3,36 ± 0,90	3,43 ± 0,76	0,558
Kwasy tłuszczowe nasycone		47,74 ± 3,70	46,85 ± 2,05	0,657
Kwasy tłuszczowe jednonienasycone		20,14 ± 1,86	19,65 ± 1,24	0,214

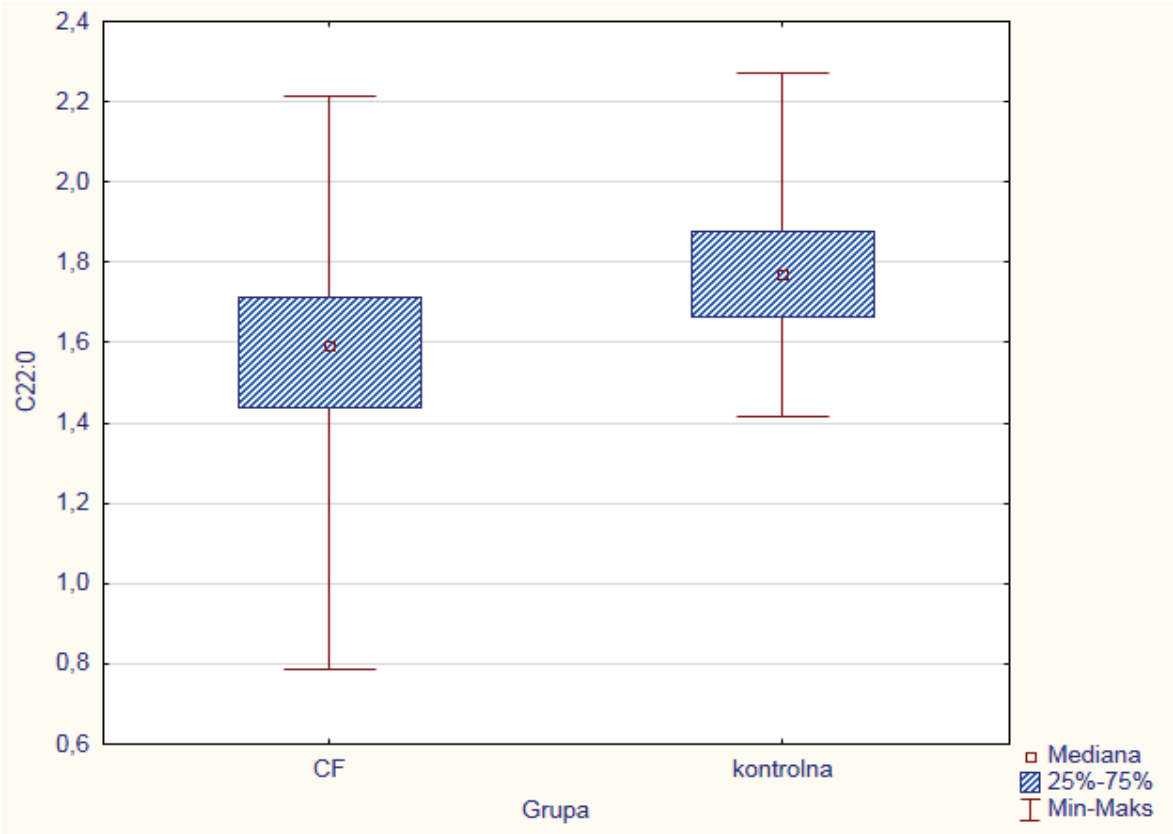
Przeanalizowano procentowa zawartość kwasów i uzyskano wyniki zaprezentowane w tabeli 25. Zaobserwowano różnice w jakościowym profilu kwasów tłuszczowych w poszczególnych grupach. Średnia procentowa zawartość kwasu mirystynowego [Ryc. 22], kwasu lignocerynowego [Ryc. 24] była podwyższona we krwi dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej. Jednocześnie obserwowano obniżenie średniego procentowego udziału kwasu behenowego w grupie dzieci z CF [Ryc. 23], a różnice osiągnęły poziom istotności statystycznej [Tab. 25]. Udział procentowy pozostałych oznaczonych nasyconych kwasów tłuszczowych został przedstawiony w tabeli 27. Spośród wszystkich kwasów tłuszczowych największy odsetek wśród dzieci z CF stanowiły następujące kwasy tłuszczowe nasycone: kwas palmitynowy (25,1 % ± 1,6 SD), kwas stearynowy (15,5 % ± 2,6 SD) oraz kwas lignocerynowy (4,0 % ± 0,6 SD).

Tabela 25 Porównanie średniego procentowego udziału poszczególnych nasyconych kwasów tłuszczowych w obu grupach

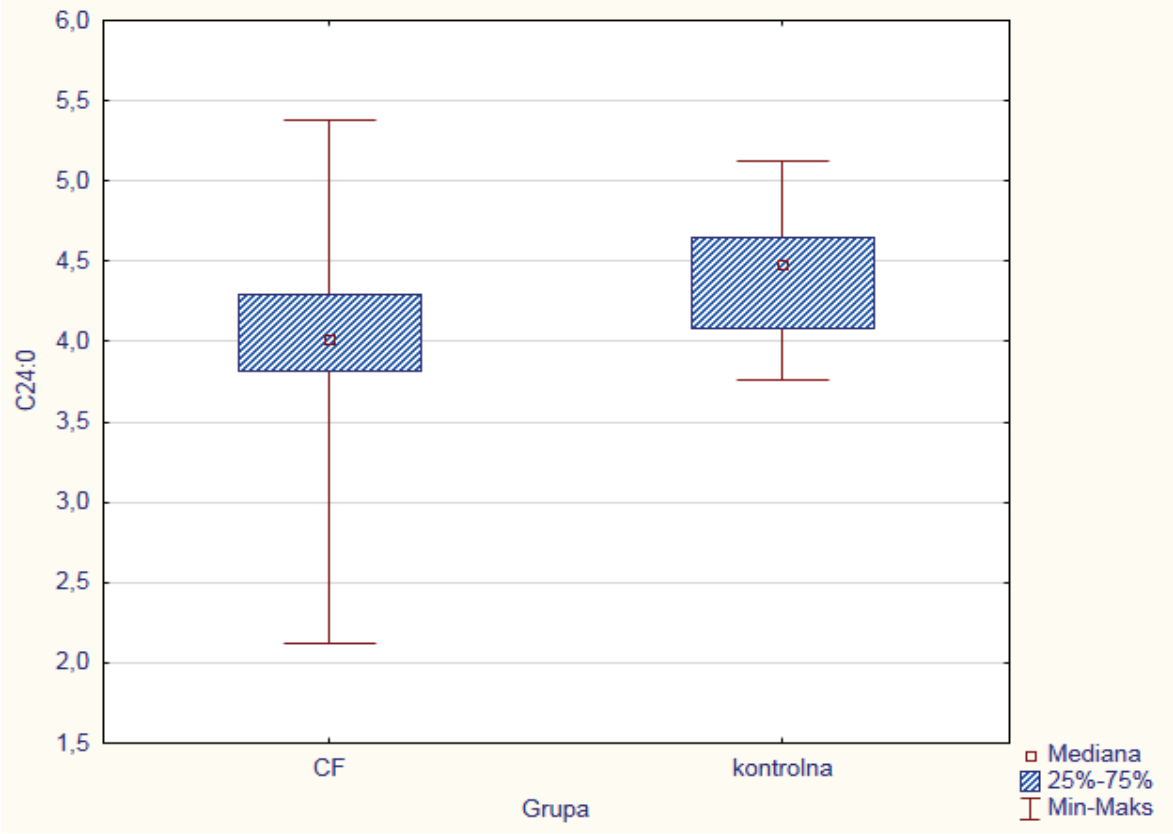
Kwasy tłuszczowe nasycone [%]	Grupa badana (n=71)		Grupa referencyjna (n=30)		Istotność statystyczna p
	Średnia	Odchylenie standardowe	Średnia	Odchylenie standardowe	
Kwas mirystynowy 14:0	0,6	0,2	0,0	0,0	0,000
Kwas pentadekanowy 15:0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,088
Kwas palmitynowy 16:0	25,1	1,6	25,0	1,0	0,097
Kwas margarynowy 17:0	0,3	0,1	0,0	0,0	0,898
Kwas stearynowy 18:0	15,5	2,6	15,0	1,0	0,180
Kwas arachidowy 20:0	0,5	0,1	0,0	0,0	0,395
Kwas behenowy 22:0	1,6	0,3	2,0	0,0	0,001
Kwas lignocerynowy 24:0	4,0	0,6	4,0	0,0	0,001



Rycina 22 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu mirystynowego (C14:0) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,000)



Rycina 23 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu behenowego (C22:0) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,001)



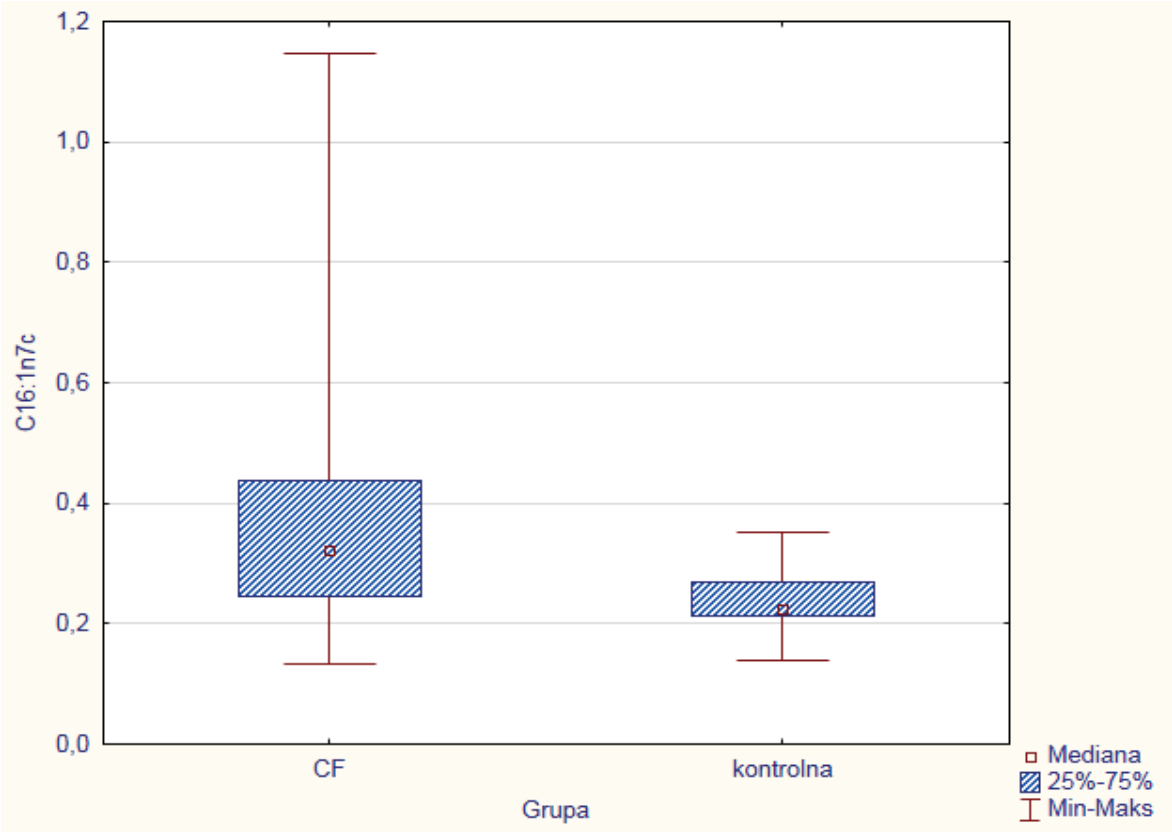
Rycina 24 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu lignocerynowego (C24:0) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,001)

U dzieci z mukowiscydozą obserwowano zwiększenie średniego procentowego udziału spośród całej puli kwasów tłuszczowych następujących kwasów jednonienasyconych: kwasu palmitoleinowego [Ryc. 25], margarooleinowego [Ryc. 26], wakcenowego [Ryc. 27], erukowego [Ryc. 28]. Różnice te były istotne statystycznie [Tab. 26]. Udział procentowy pozostałych oznaczonych jednonienasyconych kwasów tłuszczowych został przedstawiony w tabeli 28. Spośród wszystkich kwasów tłuszczowych największy odsetek wśród dzieci z CF stanowiły następujące kwasy tłuszczowe jednonienasycone: kwas oleinowyowy (12,1 % ± 1,2 SD), kwas nerwonowy (5,4 % ± 0,7 SD).

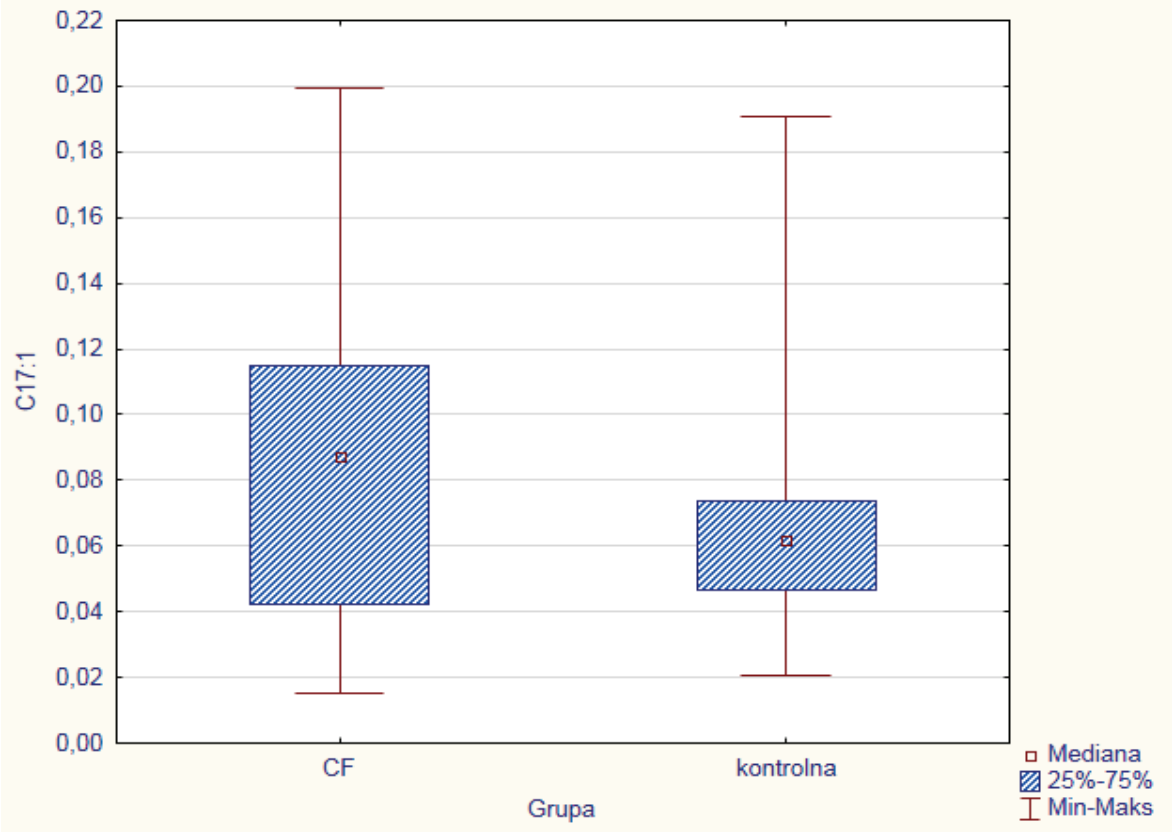
Tabela 26 Porównanie średniego procentowego udziału poszczególnych jednonienasyconych kwasów tłuszczowych w obu grupach

Kwasy tłuszczowe jednonienasycone [%]	Grupa z CF (n=71)		Grupa referencyjna (n=30)		Istotność statystyczna p
	Średnia	Odchylenie standardowe	Średnia	Odchylenie standardowe	
Kwas palmitoleinowy 16:1 (n– 7) cis	0,4	0,2	0,0	0,0	0,000
Kwas margarooleinowy 17:1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,037
Kwas elaidynowy 18:1 (n- 9) trans	0,2	0,1	0,0	0,0	0,210

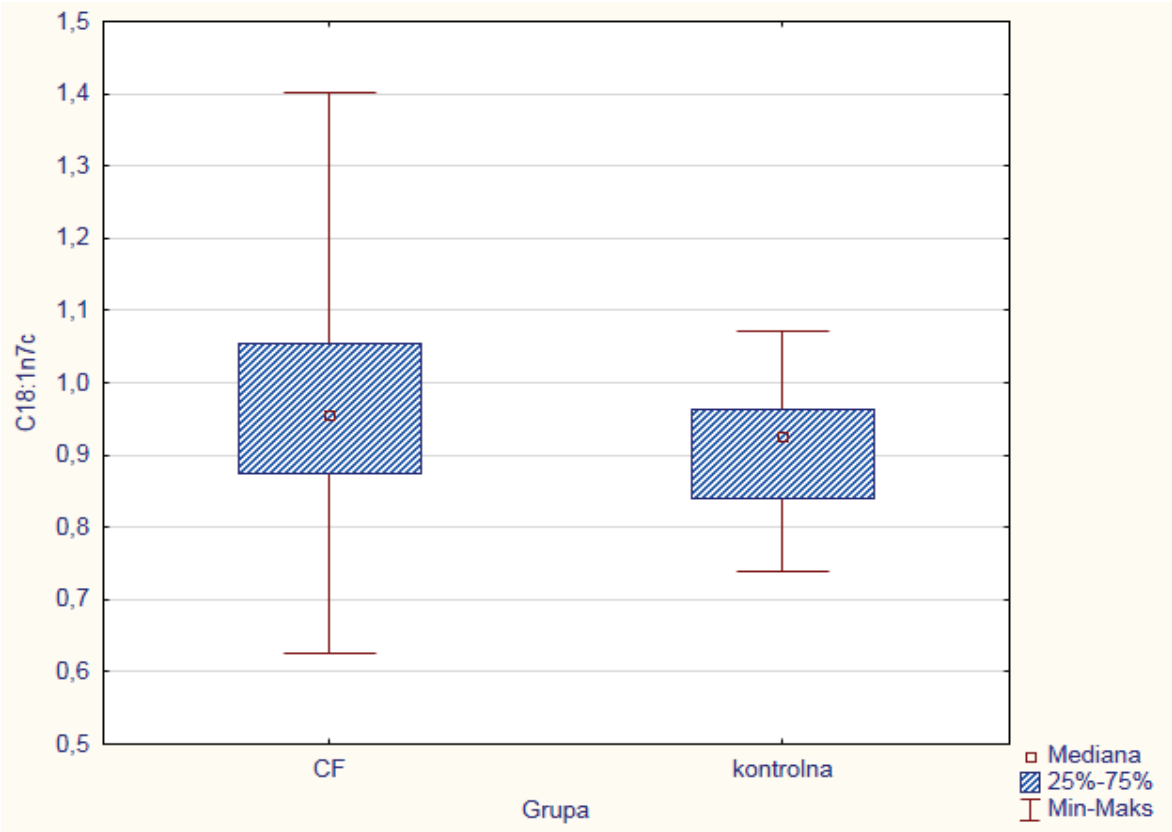
Kwasy tłuszczowe jednonienasycone [%]	Grupa z CF (n=71)		Grupa referencyjna (n=30)		Istotność statystyczna p
	Średnia	Odchylenie standardowe	Średnia	Odchylenie standardowe	
Kwas oleinowy 18:1(n- 9) cis	12,1	1,2	12,0	1,0	0,724
Kwas wakcenowy 18:1(n- 7) trans	0,2	0,1	0,0	0,0	0,322
Kwas wakcenowy 18:1(n- 7) cis	1,0	0,2	1,0	0,0	0,038
Kwas gadoleinowy 20:1 (n- 9) cis	0,5	1,0	0,0	0,0	0,826
Kwas erukowy 22:1 (n- 9) cis	0,2	0,1	0,0	0,0	0,009
Kwas cetolowy 22:1 (n- 11)	0,2	0,1	0,0	0,0	0,926
Kwas nerwonowy 24:1 (n- 9)	5,4	0,7	5,0	1,0	0,177



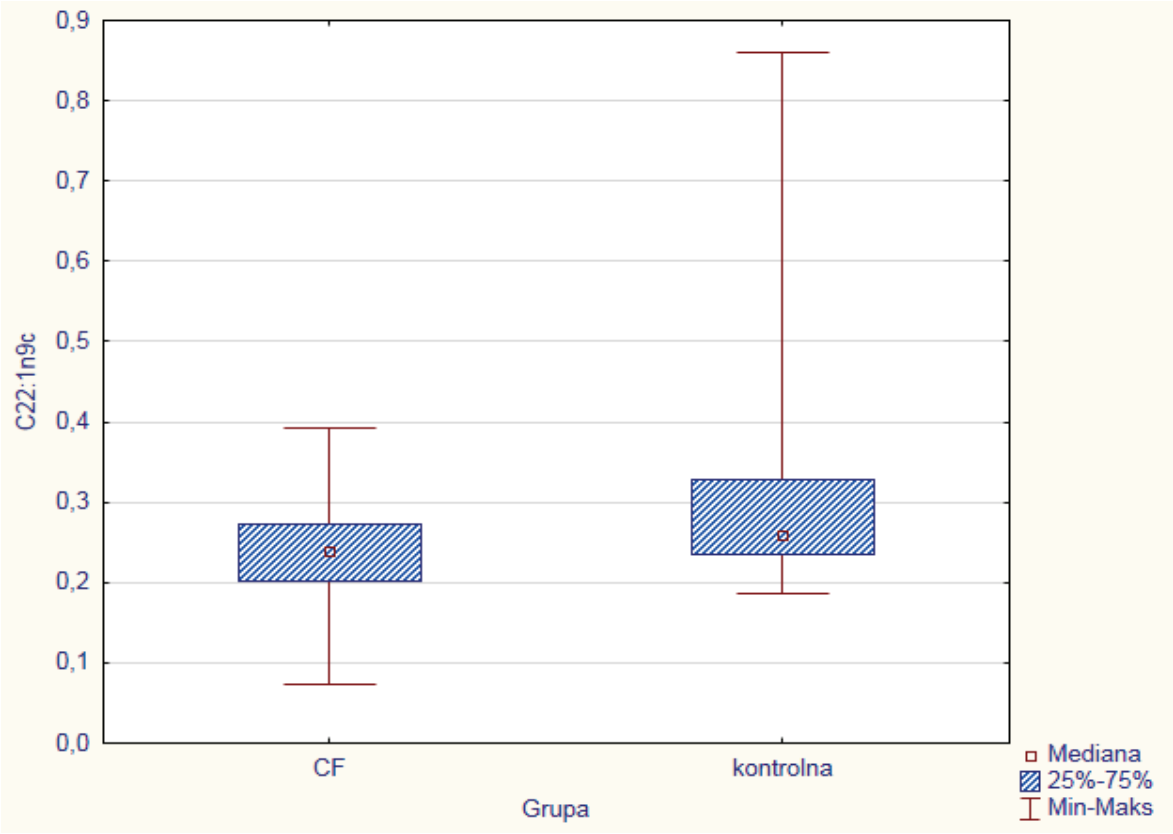
Rycina 25 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu palmitoleinowego 16:1 (n– 7) cis we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,000)



Rycina 26 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu margarooleinowego17:1we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,037)



Rycina 27 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu wakcenowego 18:1 (n- 7) cis we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,038)

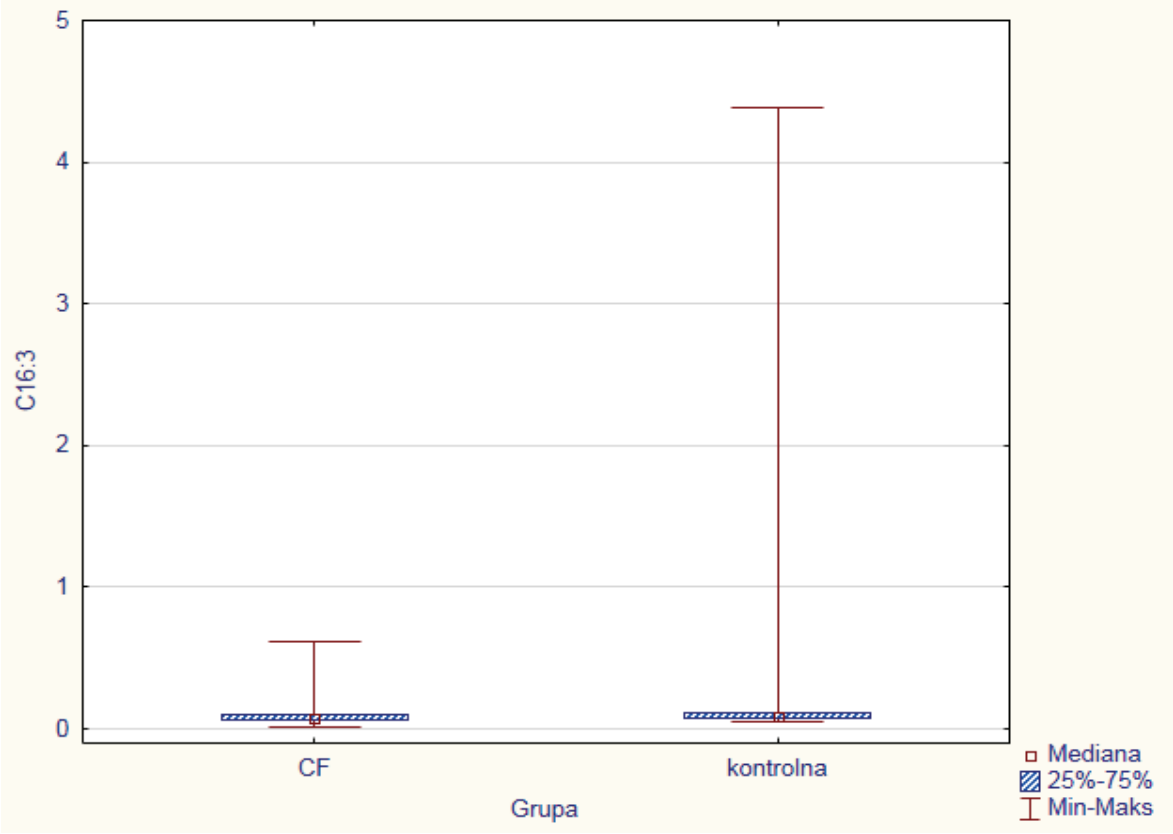


Rycina 28 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu erukowego 22:1 (n- 9) cis we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,009)

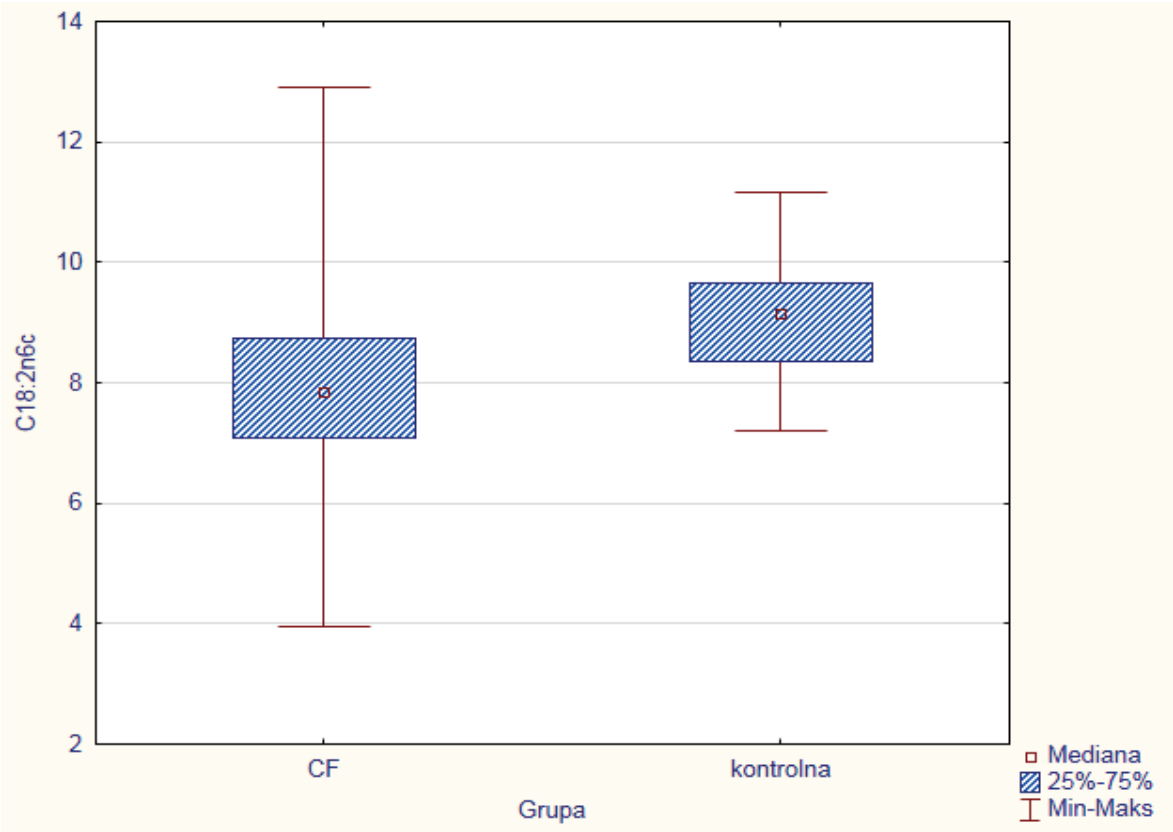
W kolejnych etapach analizy porównywano procentowy udział kwasów wielonienasyconych w tym kwasów n-3 i n-6. Zaobserwowano, iż największe różnice dotyczące średniego udziału procentowego kwasów wielonienasyconych między badanymi grupami występują w przypadkach kwasów wielonienasyconych n-6. Obserwowano zwiększenie procentowego udziału spośród całej puli kwasów tłuszczowych następujących kwasów n-6: kwasu γ-linolenowego [Ryc. 31] oraz kwasu dihomo-γ-linolenowego [Ryc. 32]. Jednocześnie tylko w przypadku jednego kwasu n– 6 obserwowano obniżenie wartości średniego procentowego udziału w ogólnej badanej puli kwasów tłuszczowych, był to kwas linolowy [Ryc. 30]. Różnice te były istotne statystycznie [Tab. 27]. Udział procentowy pozostałych oznaczonych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych został przedstawiony w tabeli 29. W przypadku kwasów wielonienasyconych n-3, tylko jeden kwas tłuszczowy - kwas heksadekatrienowy różnił się średnim procentowym udziałem w obu badanych grupach [Ryc. 29]. Nie obserwowano różnic w zakresie procentowego udziału kwasu eikozapentaenowego i dokozaheksaenowego, ani pozostałych badanych kwasów wielonienasyconych w obu badanych grupach [Tab. 27]. Spośród wszystkich kwasów tłuszczowych największy odsetek wśród dzieci z CF stanowiły następujące kwasy tłuszczowe wielonienasycone n-6 : kwas arachidonowy (11,6 % ± 1,4 SD), kwas linolowy (7,9 % ± 1,5 SD), oraz następujące kwasy wielonienasycone n– 3: kwas dokozaheksaenowy (3,6 % ± 1,1 SD) i kwas dokozapenataenowy (2,3 % ± 0,6 SD).

Tabela 27 Porównanie średniego procentowego udziału poszczególnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w obu grupach

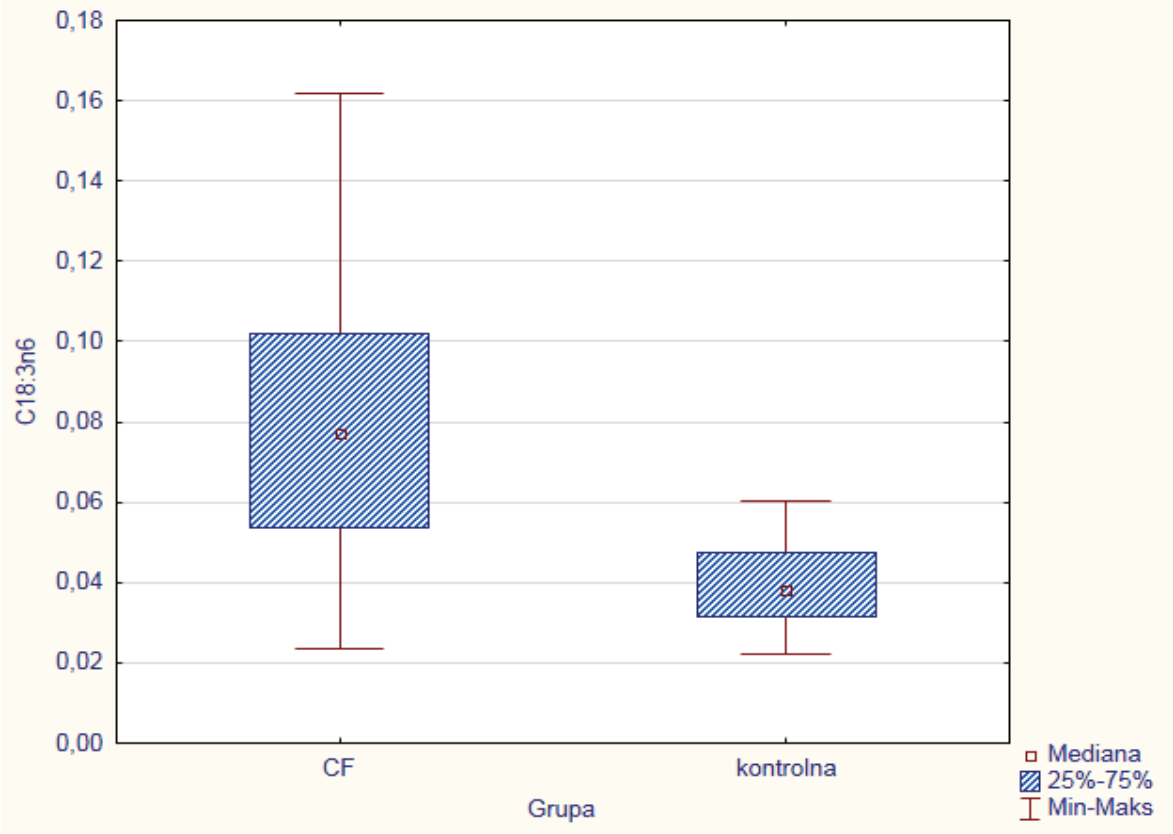
Kwasy tłuszczowe wielonienasycone [%]		**Grupa badana (n=71)**		**Grupa referencyjna (n=30)**		**p**
		Średnia	**Odchylenie standardowe**	**Średnia**	**Odchylenie standardowe**	
Kwasy tłuszczowe n-3	**Kwas heksadekatrienowy 16:3 (n-3)**	0,1	0,1	0,0	1,0	0,024
	Kwas α- linolenowy 18:3 (n-3)	0,2	0,1	0,0	0,0	0,926
	Kwas eikozapentaenowy (EPA) 20:5 (n-3)	1,5	1,1	1,0	0,0	0,123
	Kwas dokozapenataenowy 22:5 (n-3)	2,3	0,6	2,0	0,0	0,248
	Kwas dokozaheksaenowy (DHA) 22:6 (n-3)	3,6	1,1	4,0	1,0	0,127
Kwasy tłuszczowe n-6	**Kwas linolowy 18:2 (n-6) cis**	7,9	1,5	9,0	1,0	0,000
	Kwas γ-linolenowy 18:3 (n-6)	0,1	0,0	0,0	0,0	0,000
	Kwas eikozadienowy 20:2 (n-6)	0,3	0,1	0,0	0,0	0,205
	Kwas dihomo-γ- linolenowy 20:3 (n-6)	1,7	0,4	1,0	0,0	0,003
	Kwas arachidonowy 20:4 (n-6)	11,6	1,4	12,0	1,0	0,091
	Kwas dokozadienowy 22:2 (n-6)	0,1	0,1	0,0	0,0	0,455
	Kwas dokozatetraenowy 22:4 (n-6)	2,9	0,6	3,0	0,0	0,254



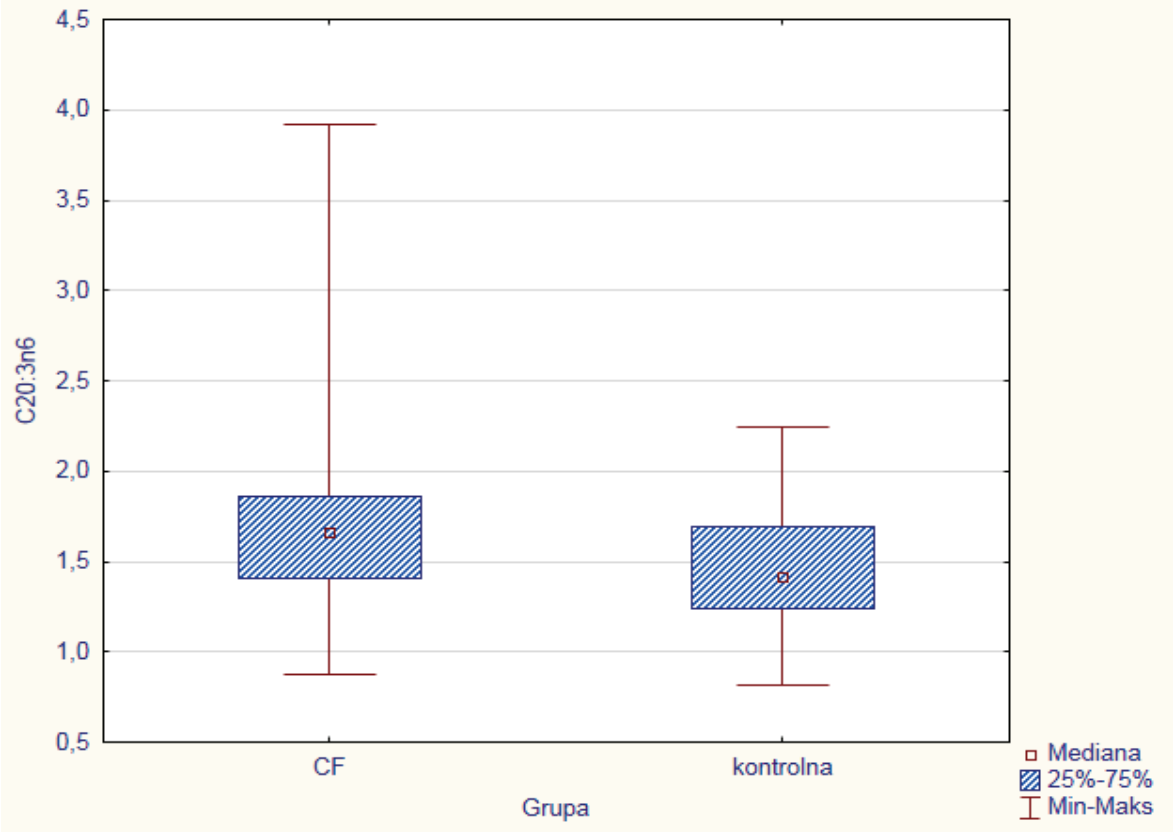
Rycina 29 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu heksadekatrienowego 16:3 (n- 3) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,024)



Rycina 30 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu linolowego 18:2 (n- 6) cis we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,000)



Rycina 31 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu γ - linolenowego 18:3 (n- 6) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,000)



Rycina 32 Porównanie średniego procentowego udziału kwasu dihomo- γ - linolenowy 20:3 (n- 6) we krwi dzieci z CF i zdrowych (p = 0,003)

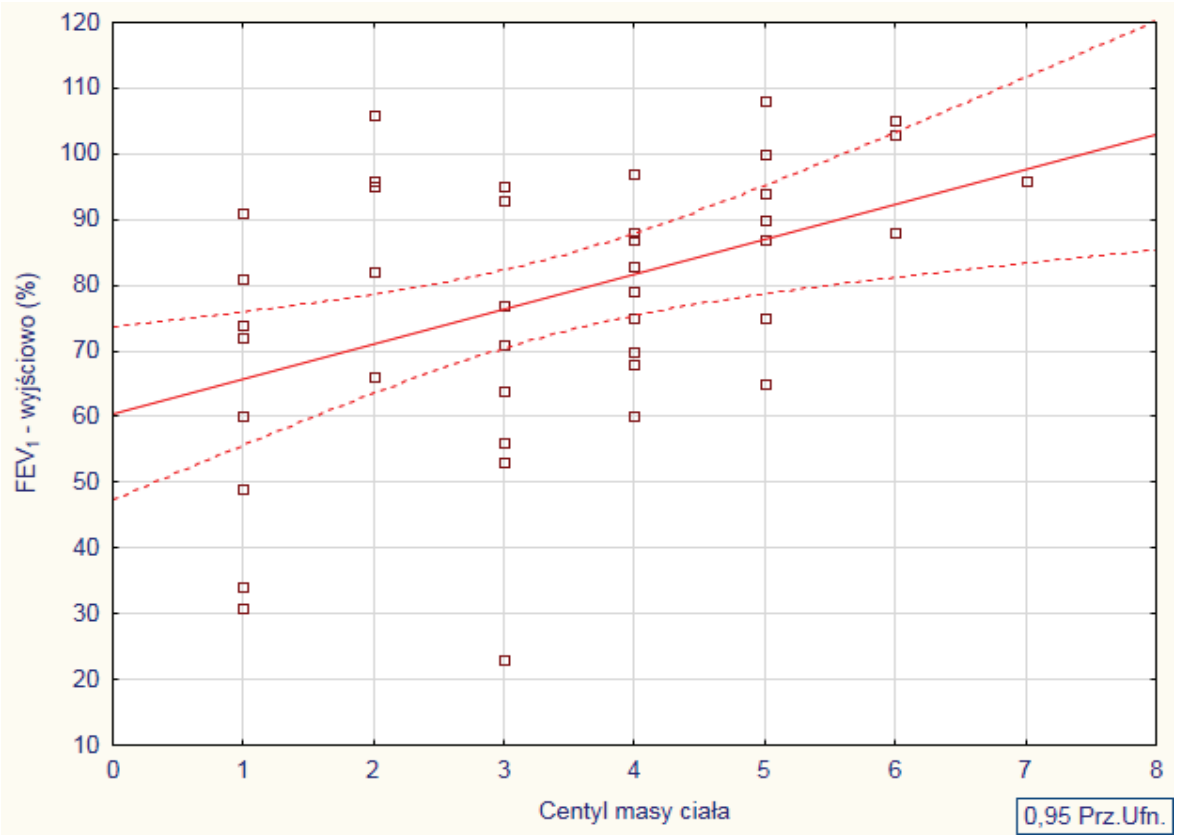
4.1.4. Ocena zależności pomiędzy stanem odżywienia a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

4.1.4.1. Ocena zależności między parametrami antropometrycznymi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

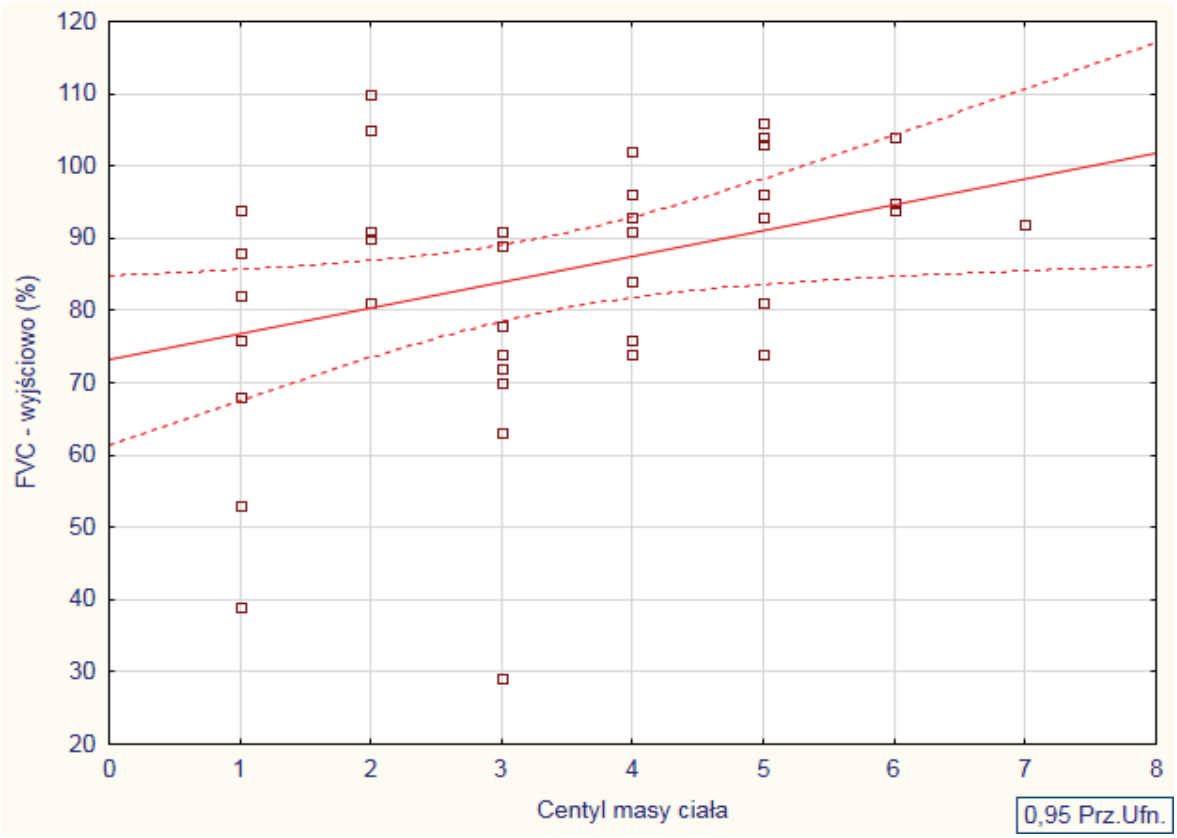
W kolejnych etapach pracy u dzieci z mukowiscydozą badano zależność pomiędzy parametrami antropometrycznymi a stanem klinicznym, określanym jako wydolność oddechowa i kolonizacja dróg oddechowych przez patogeny i florę fizjologiczną. Zaobserwowano, że u dzieci z niższym percentylem masy ciała wiążą się gorsze wyniki spirometrii, w zakresie procentowych wartości FEV_1, FVC, FEF_{25-75} [Ryc. 33 - 35]. W przypadku zależności percentyla wysokości ciała istniała pozytywna korelacja z FEF_{25-75}% [Ryc. 36]. Poza tym nie obserwowano zależności między pozostałymi badanymi cechami somatycznymi, a funkcją płuc [Tab. 28].

Tabela 28 Analiza korelacji między cechami somatycznymi a wydolnością układu oddechowego u dzieci z mukowiscydozą

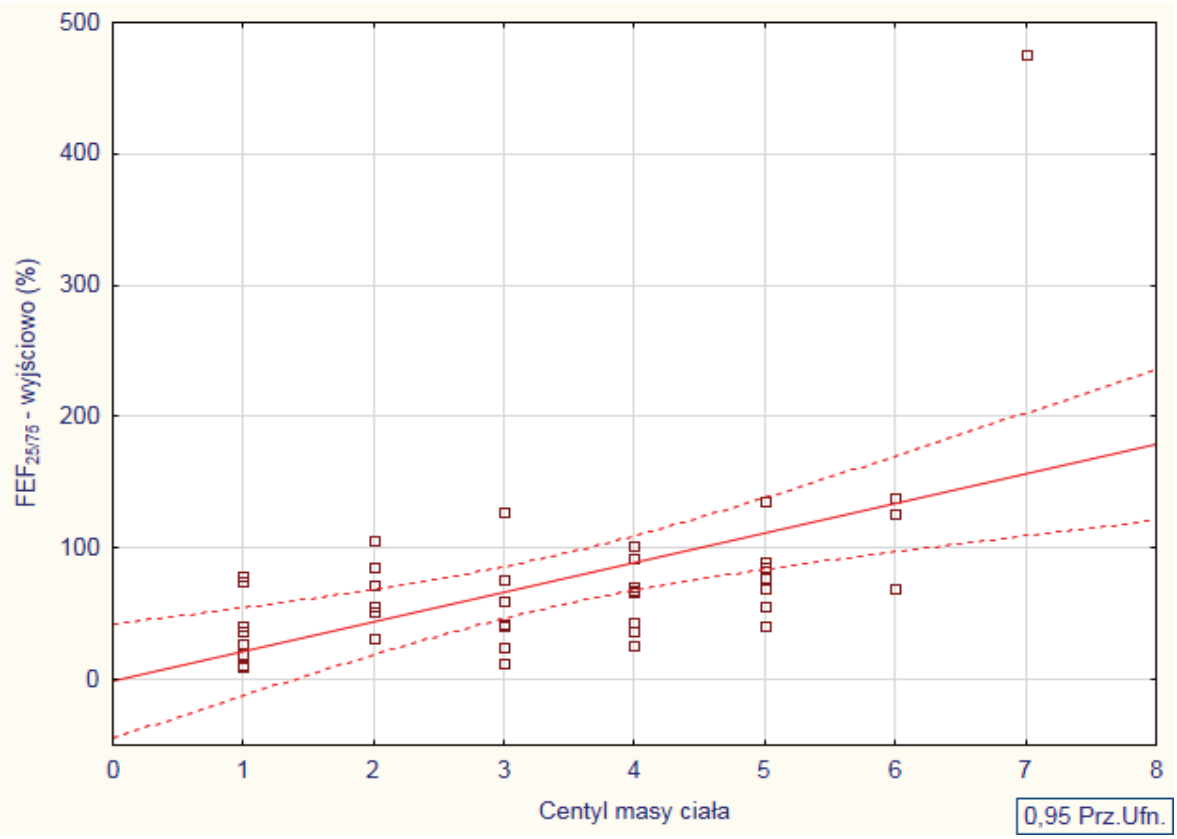
Zmienna objaśniająca	FEV_1%			FVC%			FEF_{25-75}%		
	n	R	p	n	R	p	n	R	p
BMI [kg/m^2]	55	0,120	0,383	55	0,199	0,144	55	- 0,058	0,674
Percentyl masy ciała	55	0,360	0,007	55	0,361	0,007	55	0,420	0,001
Percentyl wysokości ciała	55	0,252	0,064	55	0,250	0,066	55	0,408	0,002
FFM [%] antropometria	55	- 0,161	0,239	55	- 0,193	0,159	55	- 0,003	0,985
FFM [%] bioimpedancja	55	- 0,003	0,985	55	0,000	0,998	55	0,028	0,837



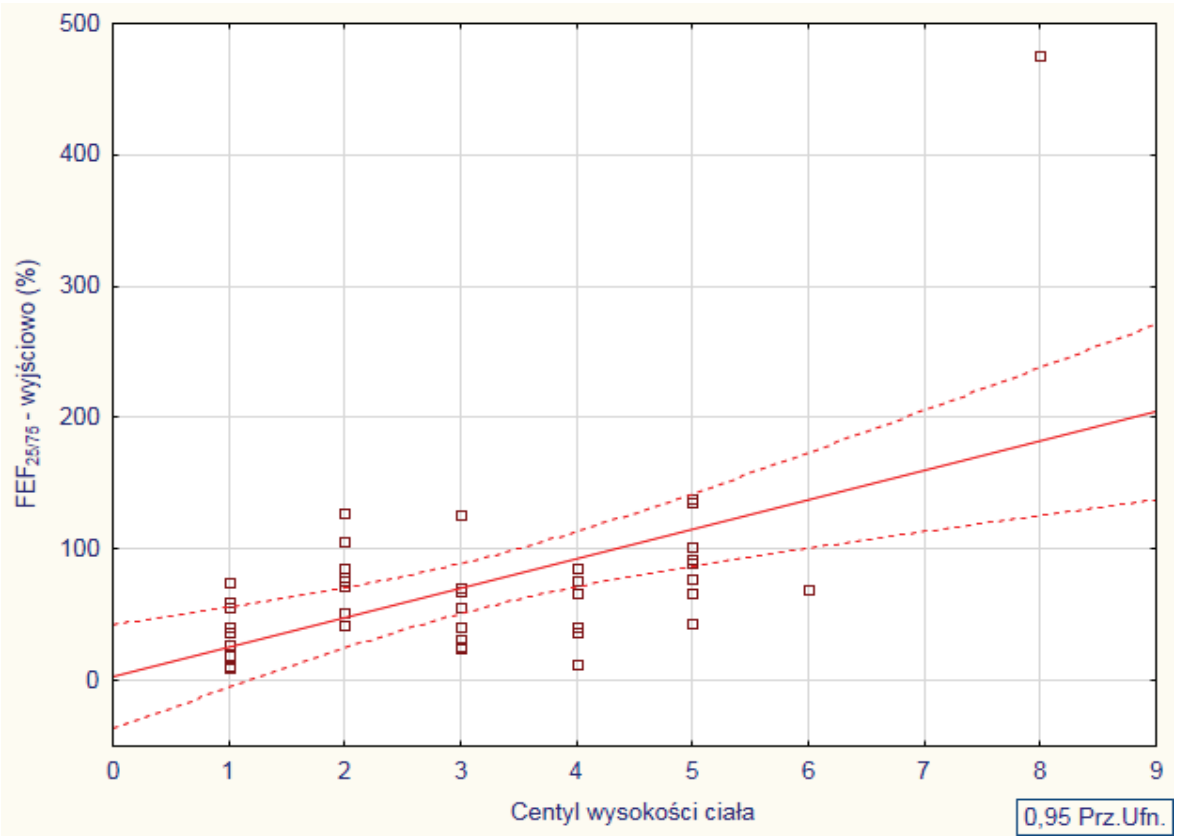
Rycina 33 Analiza korelacji między centylem masy ciała a wydolnością układu oddechowego wyrażoną w % FEV_1 u dzieci z CF (p = 0,007; R = 0,360)



Rycina 34 Analiza korelacji między centylem masy ciała a wydolnością układu oddechowego wyrażoną w % FVC u dzieci z CF (p = 0,007; R = 0,361)



Rycina 35 Analiza korelacji między centylem masy ciała a wydolnością układu oddechowego wyrażoną w FEF_{25-75} u dzieci z CF (p = 0,001; R = 0,420)



Rycina 36 Analiza korelacji między centylem wysokości ciała a wydolnością układu oddechowego wyrażoną w FEF_{25-75} u dzieci z CF (p = 0,002; R = 0,408)

Następnie podjęto próbę ustalenia, czy cechy somatyczne u dzieci z CF zmieniają się w zależności od ewentualnej kolonizacji przez patogeny i/lub florę fizjologiczną dróg oddechowych. Aby sprawdzić siłę zależności pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) oraz procentowymi wartościami FFM uzyskanej badaniem antropometrii i bioimpedancji, a kolonizacją dróg oddechowych przez poszczególne patogeny (*Pseudomonas aeruginisa, Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia*) i florę fizjologiczną (*Paciorkowce zieleniejące, Neisseria spp*) zbadano korelację tych parametrów u dzieci z CF. Nie wykazano obecności żadnej korelacji między badanymi zmiennymi [Tab. 29 - 32].

Tabela 29 Analiza związku między cechami somatycznymi a kolonizacją przez *Pseudomonas aeruginosa* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Pseudomonas aeruginosa*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
BMI [kg/m^2]	16	17,04	2,57	59	16,70	2,10	0,586
FFM [%] - antropometria	16	77,83	8,42	59	77,45	6,02	0,761
FFM [%]- BIA	16	80,33	6,06	59	81,43	11,95	0,140

Tabela 30 Analiza związku między cechami somatycznymi a kolonizacją przez *Staphylococcus aureus* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Staphylococcus aureus*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
BMI [kg/m^2]	34	16,87	2,28	41	16,70	2,15	0,731
FFM [%]- antropometria	34	77,08	6,74	41	77,91	6,44	0,516
FFM [%] - BIA	34	82,38	5,51	41	80,22	13,93	0,924

Tabela 31 Analiza związku między cechami somatycznymi a kolonizacją przez *Burkholderia cepacia* dróg u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Burkholderia cepacia*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
BMI [kg/m^2]	3	18,58	2,84	72	16,70	2,15	0,148
FFM [%] - antropometria	3	73,45	4,62	72	77,70	6,58	0,250
FFM [%] - BIA	3	82,64	9,81	72	81,14	11,04	0,636

Tabela 32 Analiza związku między cechami somatycznymi a kolonizacją przez florę fizjologiczną dróg u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja florą fizjologiczną						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
BMI [kg/m^2]	70	16,73	2,24	5	17,43	1,45	0,334
FFM [%] - antropometria	70	77,49	6,49	5	78,20	8,11	0,992
FFM [%] - BIA	70	81,30	11,20	5	79,78	6,80	0,345

4.1.4.2. Ocena zależności pomiędzy parametrami biochemicznymi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

4.1.4.2.1. Ocena zależności między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

Zbadano również czy istnieje zależność między stężeniem innych parametrów stanu odżywienia w tym witamin rozpuszczalnych w tłuszczach a parametrami stanu klinicznego określanym jak w poprzednich analizach za pomocą wydolności oddechowej oraz kolonizacji dróg oddechowych przez patogeny i florę fizjologiczną. Nie wykazano istotnej zależności między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy dzieci z CF a wydolnością ich układu oddechowego [Tab.33].

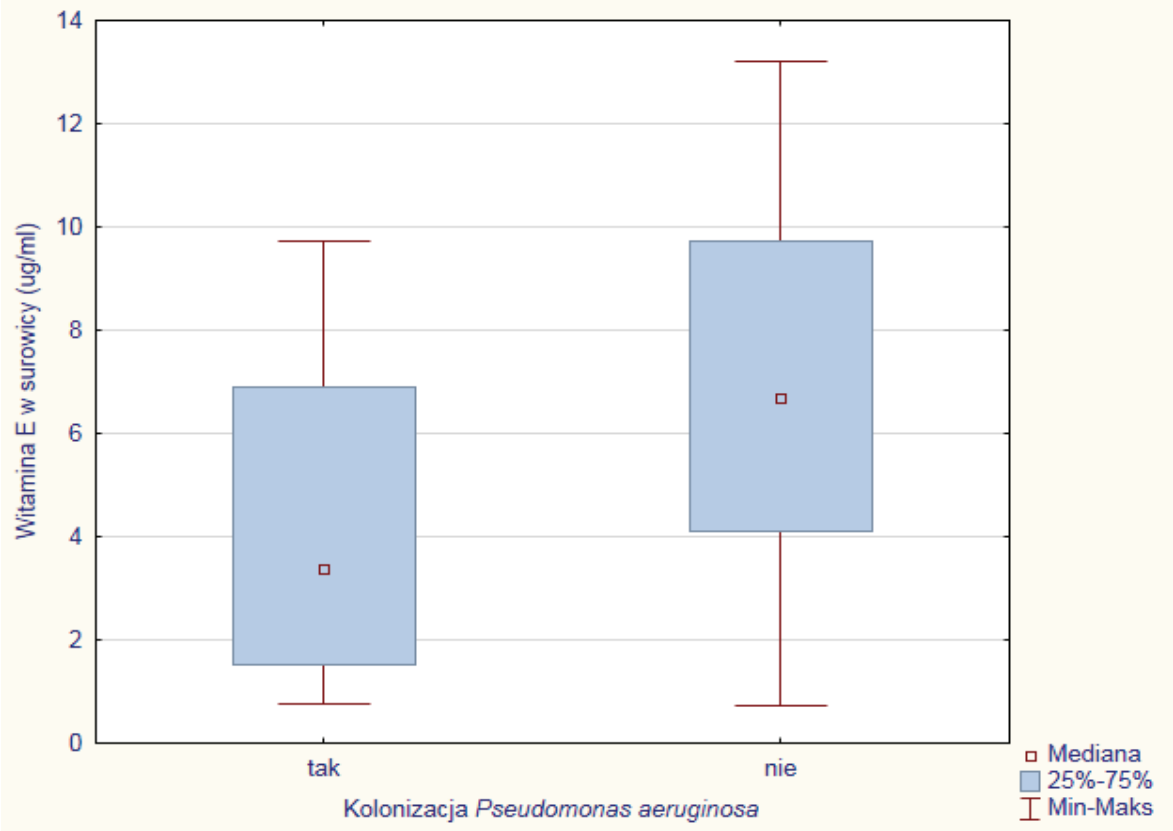
Tabela 33 Analiza korelacji między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a wydolnością układu oddechowego u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	FEV_1 %			FVC %			FEF_{25-75} %		
	n	R	p	n	R	p	n	R	p
Witamina A [ug/ml]	55	- 0,007	0,959	55	- 0,048	0,727	55	0,013	0,925
Witamina 25(OH)D_3 [ng/ml]	55	- 0,133	0,332	55	- 0,169	0,217	55	- 0,084	0,542
Witamina E [ug/ml]	55	- 0,085	0,539	55	- 0,069	0,616	55	- 0,035	0,802
Witamina K1 [ng/ml]	55	- 0,065	0,638	55	- 0,067	0,627	55	- 0,059	0,669

Wykazano, że średnie stężenie witaminy E było istotnie wyższe u tych dzieci z CF u których nie występowała kolonizacja dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* [Ryc. 37]. Zaobserwowano tendencje do niższego średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3 u dzieci z kolonizacją dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* [Tab. 34].

Tabela 34 Analiza związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a kolonizacją przez *Pseudomonas aeruginosa* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Pseudomonas aeruginosa*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina A [ug/ml]	16	0,82	0,19	58	0,78	0,19	0,315
Witamina 25(OH)D_3 [ng/ml]	16	11,63	2,97	58	13,38	3,36	0,094
Witamina E [ug/ml]	16	4,38	2,97	58	6,60	3,44	0,031
Witamina K1[ng/ml]	16	0,41	0,23	58	0,40	0,20	0,871



Rycina 37 Porównanie średniego stężenia witaminy E w surowicy dzieci z CF z kolonizacją dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* i bez kolonizacji (p = 0,031)

Nie obserwowano związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a kolonizacją dróg oddechowych przez *Staphylococcus aureus* [Tab. 35]

Tabela 35 Analiza związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a kolonizacją przez *Staphylococcus aureus* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Staphylococcus aureus*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina A [µg/ml]	34	0,79	0,21	40	0,79	0,17	0,944
Witamina 25(OH)D_3 [ng/ml]	34	13,59	3,54	40	12,50	3,11	0,167
Witamina E [µg/ml]	34	6,01	3,57	40	6,21	3,38	0,816
Witamina K1 [ng/ml]	34	0,41	0,21	40	0,40	0,21	0,636

Nie obserwowano związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy, a kolonizacją dróg oddechowych przez *Burkholderia cepacia* [Tab. 36].

Tabela 36 Analiza związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a kolonizacją przez *Burkholderia cepacia* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Burkholderia cepacia*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina A [µg/ml]	3	0,92	0,04	71	0,78	0,19	0,139
Witamina 25(OH)D_3 [ng/ml]	3	11,69	3,95	71	13,06	3,33	0,493
Witamina E [µg/ml]	3	3,37	2,37	71	6,23	3,45	0,162
Witamina K1 [ng/ml]	3	0,52	0,13	71	0,40	0,21	0,481

Nie obserwowano związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy, a kolonizacją dróg oddechowych przez florę fizjologiczną [Tab. 37].

Tabela 37 Analiza związku między stężeniem witamin rozpuszczalnych w tłuszczach w surowicy a kolonizacją przez florę fizjologiczną dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja florą fizjologiczną						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina A [µg/ml]	69	0,80	0,19	5	0,72	0,22	0,547
Witamina 25(OH)D_3 [ng/ml]	69	13,04	3,33	5	12,48	3,77	0,532
Witamina E [µg/ml]	69	6,12	3,47	5	6,04	3,47	0,948
Witamina K1 [ng/ml]	69	0,40	0,21	5	0,46	0,26	0,595

4.1.4.2.2. Ocena zależności między stężeniem w moczu witaminy C a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

W wyniku analiz statystycznych, również w tym przypadku, wykazano brak istotnej zależności między stężeniem witaminy C w moczu u dzieci z CF a wydolnością ich układu oddechowego [Tab. 38].

Tabela 38 Analiza korelacji między stężeniem witaminy C w moczu a wydolnością układu oddechowego u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	FEV_1%			FVC%			FEF_{25-75}%		
	n	R	p	n	R	p	n	R	p
Witamina C [µg/ml]	48	0,020	0,891	48	- 0,089	0,547	48	0,190	0,196

Wykazano, że istnieje tendencja do wyższych stężeń witaminy C w moczu u tych dzieci z CF u których występowała kolonizacja dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa*. Różnica ta była bliska istotności statystycznej [Tab. 39].

Tabela 39 Analiza związku między stężeniem witaminy C w moczu a kolonizacją przez *Pseudomonas aeruginosa* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Pseudomonas aeruginosa*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina C [µg/ml]	15	1,50	0,50	49	1,25	0,59	0,078

Nie obserwowano związku między stężeniem witaminy C w moczu,a kolonizacją dróg oddechowych przez patogeny - *Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia* oraz florą fizjologiczną [Tab. 40 - 42].

Tabela 40 Analiza związku między stężeniem witaminy C w moczu a kolonizacją przez *Staphylococcus aureus* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Staphylococcus aureus*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina C [µg/ml]	31	1,36	0,62	33	1,26	0,54	0,541

Tabela 41 Analiza związku między stężeniem witaminy C w moczu a kolonizacją przez *Burkholderia cepacia* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Burkholderia cepacia*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina C [µg/ml]	3	0,99	0,27	61	1,33	0,59	0,427

Tabela 42 Analiza związku między stężeniem witaminy C w moczu a kolonizacją przez florę fizjologiczną dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja florą fizjologiczną						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina C [µg/ml]	59	1,26	0,53	5	1,87	0,90	0,133

4.1.4.2.3. Ocena zależności między profilem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u pacjentów z CF

Następnym parametrem biochemicznym z którym porównywano stan kliniczny określany jak w poprzednich analizach za pomocą wydolności oddechowej i kolonizacji dróg oddechowych przez patogeny i florę fizjologiczną był procentowy udział niensyconych kwasów tłuszczowych w puli wszystkich zbadanych kwasów. Nie wykazano istotnej zależności między obecnością nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a wydolnością układu oddechowego dzieci z mukowiscydozą [Tab.43].

Tabela 43 Analiza korelacji między procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a wydolnością układu oddechowego u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	FEV_1 %			FVC%			FEF_{25-75} %		
	n	R	p	n	R	p	n	R	p
Nienasycone kwasy tłuszczowe [%]	52	- 0,074	0,603	52	- 0,123	0,387	52	- 0,010	0,946

Nie obserwowano związku między średnim procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi, a kolonizacją dróg oddechowych przez patogeny - *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia* oraz florą fizjologiczną [Tab.44 - 47].

Tabela 44 Analiza związku między procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a kolonizacją przez *Pseudomonas aeruginosa* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Pseudomonas aeruginosa*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Nienasycone kwasy tłuszczowe [%]	14	51,24	4,56	57	52,51	3,46	0,282

Tabela 45 Analiza związku między procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a kolonizacją przez *Staphylococcus aureus* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Staphylococcus aureus*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Nienasycone kwasy tłuszczowe [%]	32	52,85	2,60	39	51,78	4,39	0,317

Tabela 46 Analiza związku między procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a kolonizacją przez *Burkholderia cepacia* dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja *Burkholderia cepacia*						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Nienasycone kwasy tłuszczowe [%]	3	53,18	0,79	68	52,22	3,78	0,658

Tabela 47 Analiza związku między procentowym udziałem nienasyconych kwasów tłuszczowych we krwi a kolonizacją przez florę fizjologiczną dróg oddechowych u dzieci z mukowiscydozą

Zmienna objaśniająca	Kolonizacja florą fizjologiczną						p
	TAK			NIE			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Nienasycone kwasy tłuszczowe [%]	67	52,31	3,74	4	51,37	3,30	0,541

4.1.5. Ocena zależności między typem mutacji genu CFTR a parametrami stanu odżywienia u dzieci z CF

W dalszym etapie badań postanowiono ocenić, czy typ mutacji genu CFTR wpływa na wybrane parametry związane ze stanem odżywienia pacjentów z CF. Wybranymi czynnikami były podstawowe cechy somatyczne, wskaźnik stanu odżywienia BMI, procentowy udział masy tłuszczowej i beztłuszczowej organizmu, wartości były uzyskane w wyniku badań antropometrycznych i bioimpedancji [Tab. 55]. U wszystkich badanych wykonano badania molekularne DNA, określające typ mutacji genu CFTR. Na podstawie tych danych wyodrębniono trzy grupy badanych dzieci. Pierwszą grupę (n = 30; 40,0%) stanowiły osoby o genotypie delF508/delF508, drugą osoby (n = 39; 52,0%) o genotypie delF508/inna, do trzeciej zaś zaliczono dzieci o typie mutacji inna/inna (n = 6; 8,0%), gdzie „inna" oznacza inną mutację niż delF508 lub jej brak (np. G542X/N1303K; 1717-G>A/1717-1G>A, Q1281X/brak mutacji). W wyniku obliczeń statystycznych stwierdzono, że nie ma zależności między badanymi parametrami stanu odżywienia a występowaniem określonej mutacji genu CFTR [Tab. 48].

Tabela 48 Analiza związku między określoną mutacją genu CFTR a poszczególnymi parametrami stanu odżywienia ocenianymi metodami antropometrycznymi i biompedancją

Zmienna zależna	Typ mutacji genu CFTR									p
	delF508/delF508			delF508/inna			inna/inna			
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Masa ciała [kg]	30	31,41	15,58	39	27,52	15,08	6	39,67	18,40	0,191
Wysokość ciała [cm]	30	132,40	29,82	39	122,41	30,33	6	148,42	27,12	0,098
Obwód ramienia [cm]	30	19,06	3,21	39	18,93	3,23	6	20,72	4,29	0,608
Grubość fałdu skórno--tłuszczowego - nad tricepsem [mm]	30	13,51	4,36	39	13,50	4,48	6	14,17	5,70	0,946
Grubość fałdu skórno--tłuszczowy - pod łopatką [mm]	30	11,19	4,37	39	11,55	5,36	6	13,72	8,32	0,877
FFM [%] - antropometria	30	77,82	5,82	39	77,61	6,56	6	75,64	10,25	0,977
FM [%] - antropometria	30	22,18	5,82	39	22,39	6,56	6	24,36	10,25	0,977
Wskaźnik Frisancho	30	14,81	2,75	39	14,69	2,44	6	16,27	3,57	0,603
BMI [kg/m^2]	30	16,59	2,13	39	16,90	2,18	6	16,92	2,87	0,794
FFM [%] - BIA	30	82,47	5,81	39	80,26	14,21	6	80,92	4,76	0,722
FM [%] - BIA	30	17,53	5,81	39	17,42	6,48	6	19,08	4,76	0,633

4.2. II etap badania – badanie prospektywne

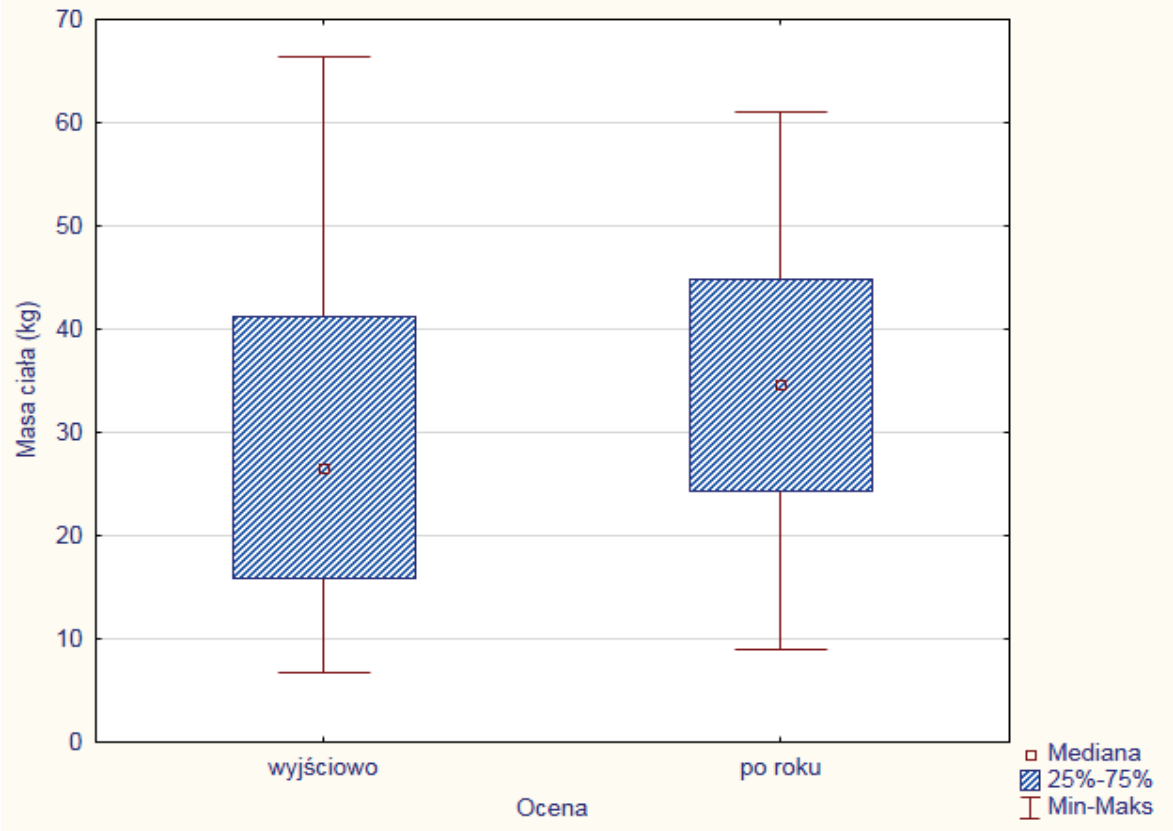
W następnym etapie badania przeanalizowano ponownie (po 12 miesiącach od badania wstępnego) parametry stanu odżywienia przeprowadzono badanie antropometryczne i badanie bioimpedancji oraz wykonano badania biochemiczne, a uzyskane wyniki porównano z wynikami badań wstępnych.

4.2.1. Ocena porównawcza wyników badań antropometrycznych u dzieci z CF przeprowadzonych w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji

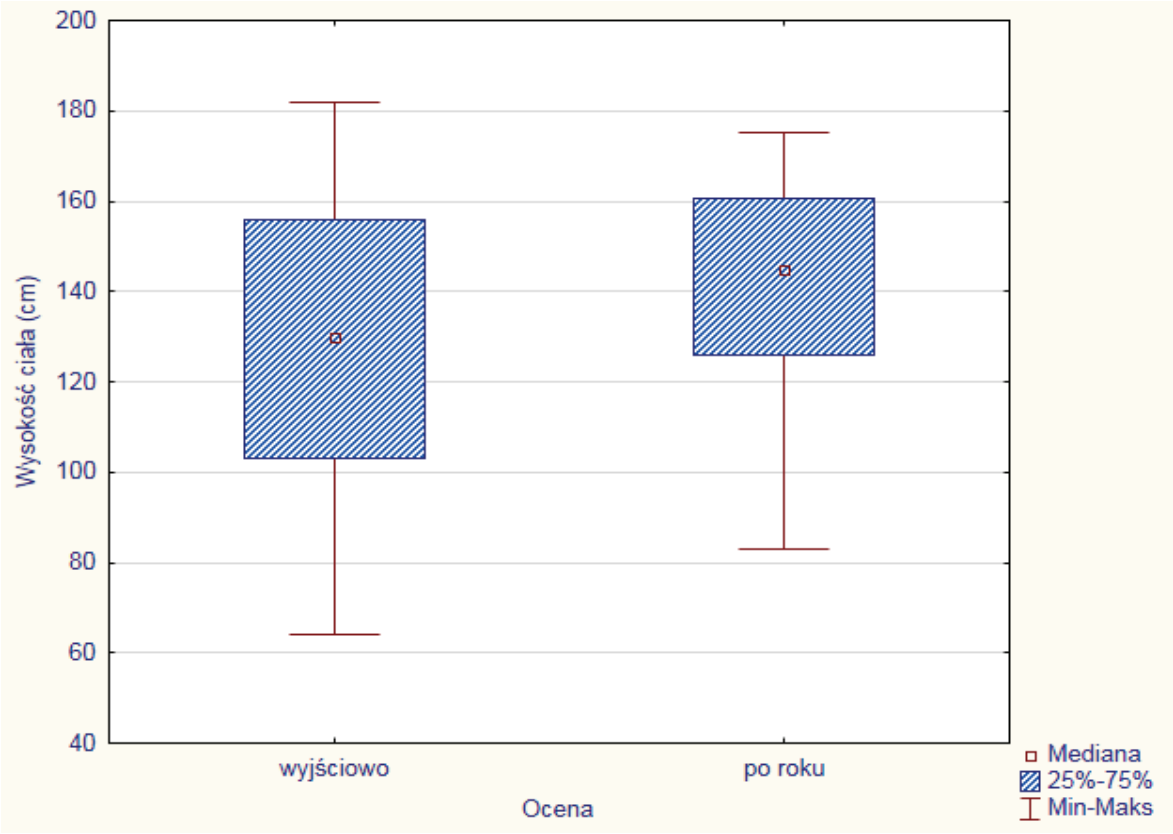
Po roku od badania wstępnego średnia masa ciała dzieci z CF wzrosła do 34,8 ± 13,7 SD kg [Ryc. 38], analogiczną tendencję wzrostową zauważono w przypadku wysokości ciała, która po roku wynosiła średnio 140,5 ± 24,5 SD cm [Ryc. 39]. A różnice te były istotne statystycznie [Tab. 49]. Obserwowano również zwiększenie średniej grubości fałdu skórno tłuszczowego nad mięśniem trójgłowym i pod łopatką. Średnie wartości po roku wynosiły odpowiednio 15,2 ± 4,8 SD mm [Ryc. 40] oraz 13,2 ± 4,2SD mm [Ryc. 41].

Tabela 49 Porównanie średnich wartości cech somatycznych u dzieci w CF uzyskanych w dniu badania wstępnego i po roku obserwacji

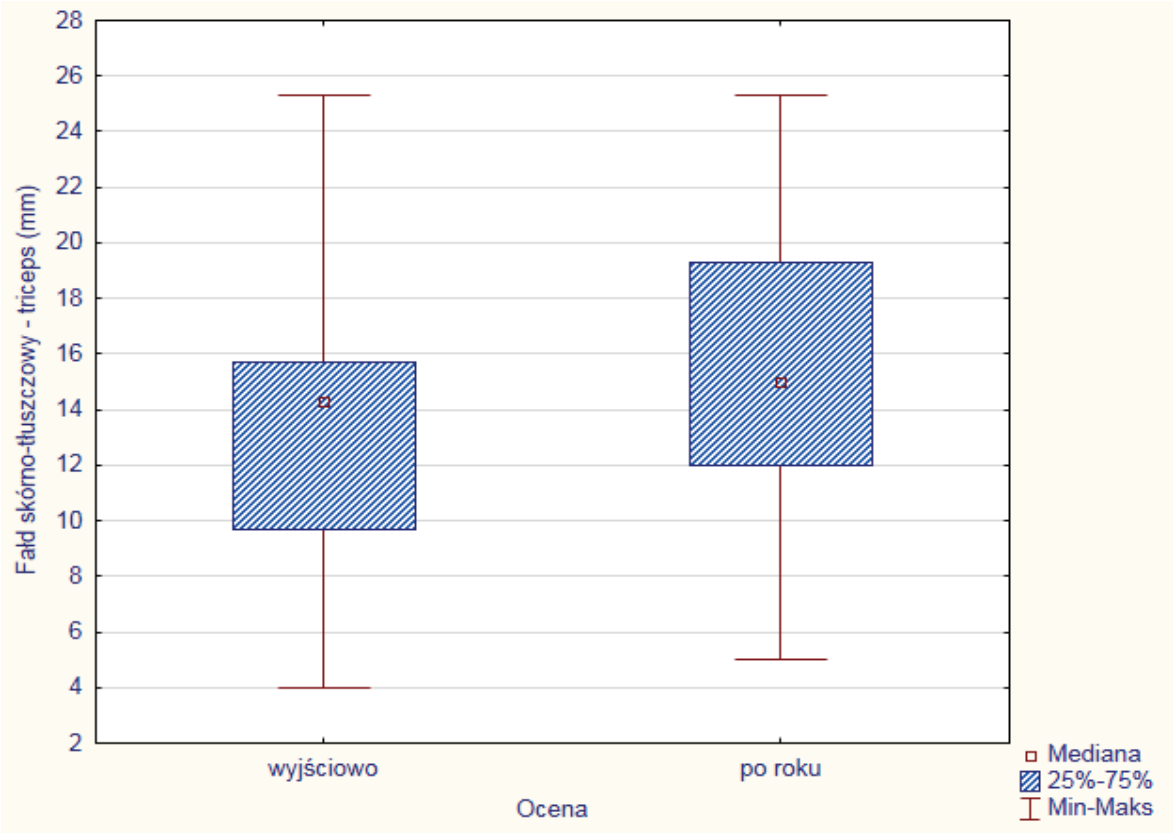
Cechy somatyczne	Grupa dzieci z CF badanie wstępne			Grupa dzieci z CF badanie po roku			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Masa ciała [kg]	75	30,0	15,7	51	34,8	13,7	0,000
Wysokość ciała [cm]	75	128,5	30,5	51	140,5	24,5	0,000
BMI [kg/m^2]	75	16,8	2,2	51	16,8	2,2	0,722
Obwód ramienia [cm]	75	19,1	3,3	51	19,5	2,8	0,847
Grubość fałdu skórno - tłuszczowego - triceps [mm]	75	13,6	4,5	51	15,2	4,8	0,006
Grubość fałdu skórno - tłuszczowego - pod łopatką [mm]	75	11,6	5,2	51	13,2	4,2	0,006



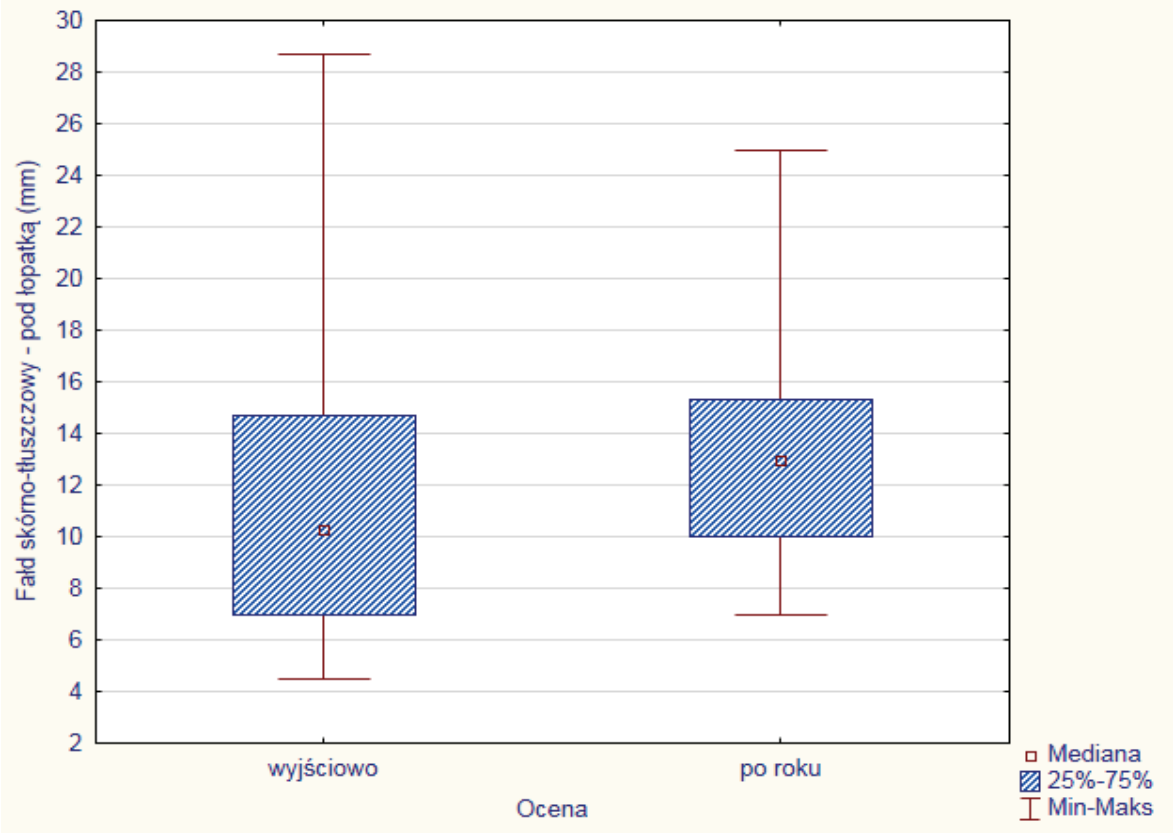
Rycina 38 Porównanie średniej masy ciała w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)



Rycina 39 Porównanie średniej wysokości ciała w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)



Rycina 40 Porównanie średniej grubości fałdu skórno-tłuszczowego nad mięśniem trójgłowym w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,006)

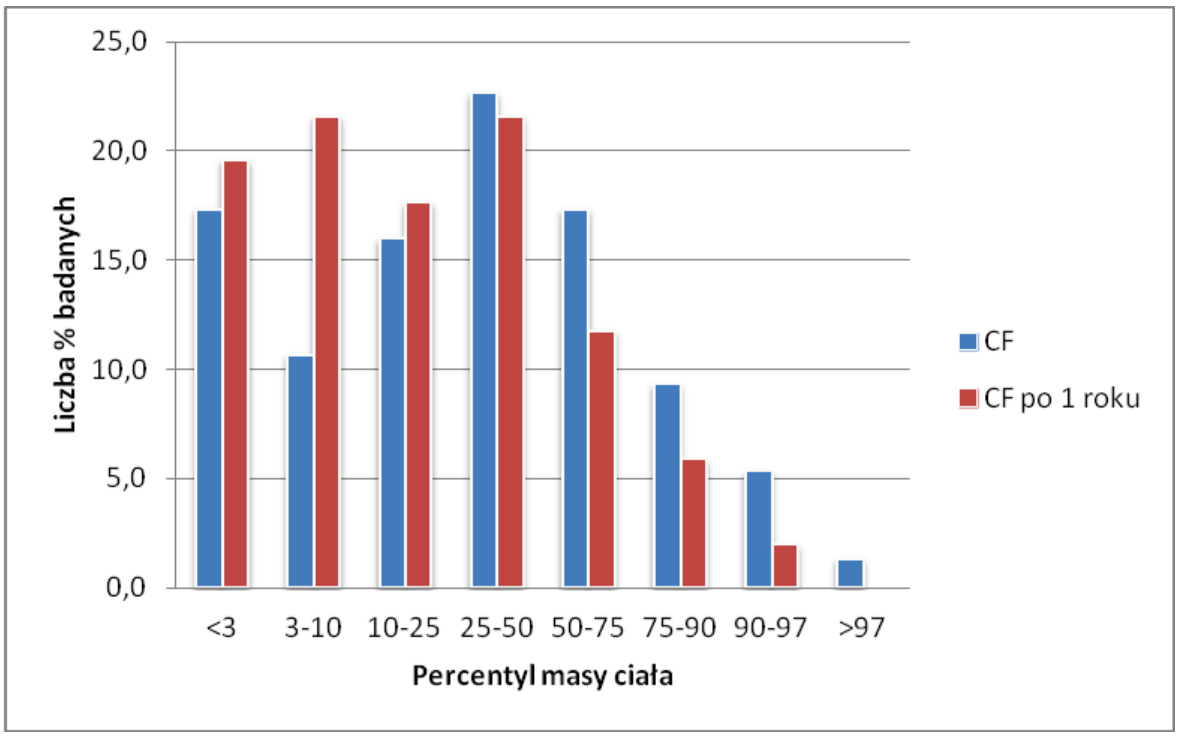


Rycina 41 Porównanie średniej grubości fałdu skórno-tłuszczowego pod łopatką w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,006)

Po roku obserwacji niedoborem masy ciała charakteryzowało się 41,2% badanych pacjentów z CF, z czego u 10 dzieci (19,6%) stwierdzono silne niedożywienie (< 3. percentyla). Wyniki rozkładu centylowego masy ciała i analiza porównawcza tych wartości w momencie badania wstępnego i badania po roku obserwacji, zostały zaprezentowane w tabeli 50. W porównaniu z badaniem wstępnym zwiększył się odsetek dzieci charakteryzujących się niższą masą ciała (najbardziej o ok. 11%, w grupie dzieci z masą ciała między 3. – 10. percentylem), natomiast odsetek dzieci z masą ciała > 50. percentyla zmniejszył się [Ryc.42].

Tabela 50 Porównanie rozkładu centylowych wartości masy ciała w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji

Masa ciała **Przedział centylowy**	**Grupa z CF badanie wstępne (n=75)**		**Grupa z CF badanie po roku (n = 51)**	
	(n)	(%)	(n)	(%)
≤ 3	13	17,33	10	19,6
3 - 10	8	10,67	11	21,6
10 - 25	12	16	9	17,7
25 - 50	17	22,67	11	21,6
50 - 75	13	17,33	6	11,8
75 - 90	7	9,33	3	5,9
90 - 97	4	5,33	1	2,0
≥ 97	1	1,33	0	0

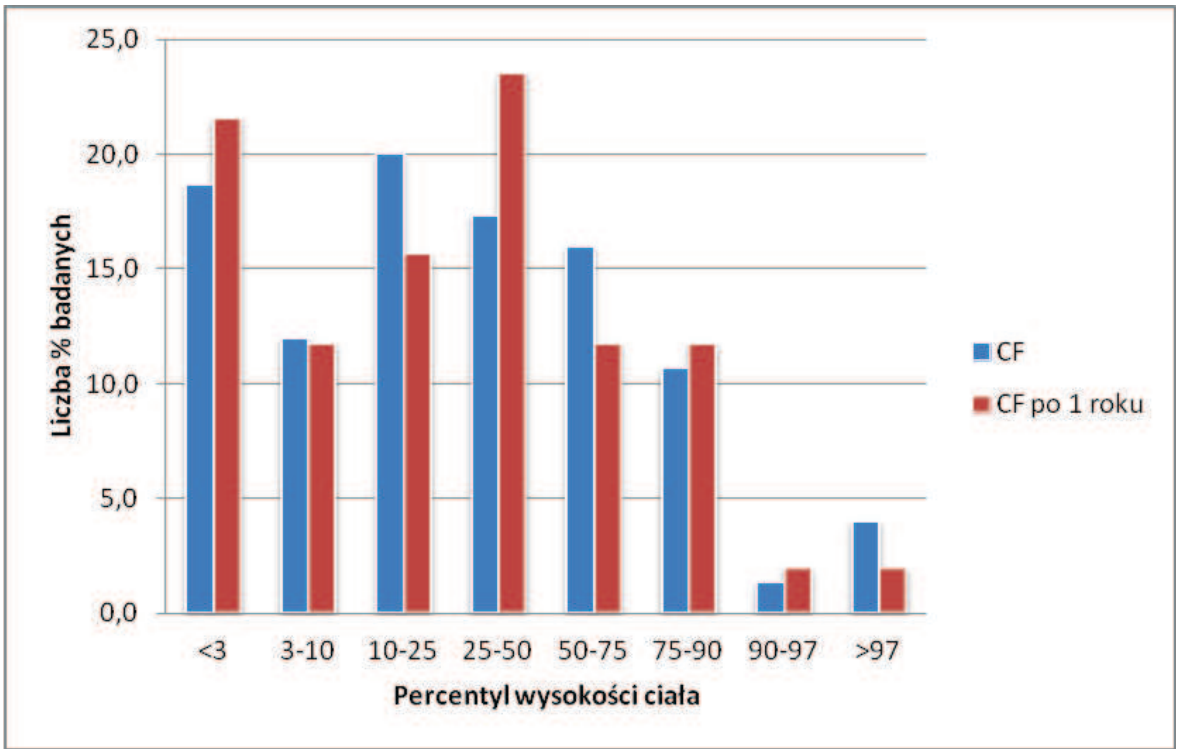


Rycina 42 Porównanie rozkładu centylowych wartości masy ciała w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji wg. siatek centylowych Palczewska, Niedźwiedzka (IMiDz), r.1999 [78]

Po roku obserwacji zaburzenia procesu wzrastania, skutkujące niskorosłością (< 3. percentyla) obserwowano u 21,6% badanych pacjentów. Wyniki rozkładu centylowego wysokości ciała i analiza porównawcza tych wartości w momencie badania wstępnego i badania po roku obserwacji, zostały zaprezentowane w tabeli 51. W porównaniu z badaniem wstępnym zwiększył się odsetek dzieci charakteryzujących się niższą wysokością ciała (o ok. 3% w grupie dzieci z wysokością ciała < 3. percentyla). Jednocześnie obserwowano wzrost odestka dzieci w przedziale 25. - 50. percentyla wysokości ciała o ok. 6% [Ryc. 43].

Tabela 51 Porównanie rozkładu centylowych wartości wysokości ciała w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji

Wysokość ciała	**Grupa z CF badanie wstępne (n = 75)**		**Grupa z CF badanie po roku (n = 51)**	
Przedział centylowy	**(n)**	**(%)**	**(n)**	**(%)**
≤ 3	14	18,67	11	21,6
3 - 10	9	12,00	6	11,8
10 - 25	15	20,00	8	15,7
25 - 50	13	17,33	12	23,5
50 - 75	12	16,00	6	11,8
75 - 90	8	10,67	6	11,8
90 - 97	1	1,33	1	2,0
≥ 97	3	4,00	1	2,0

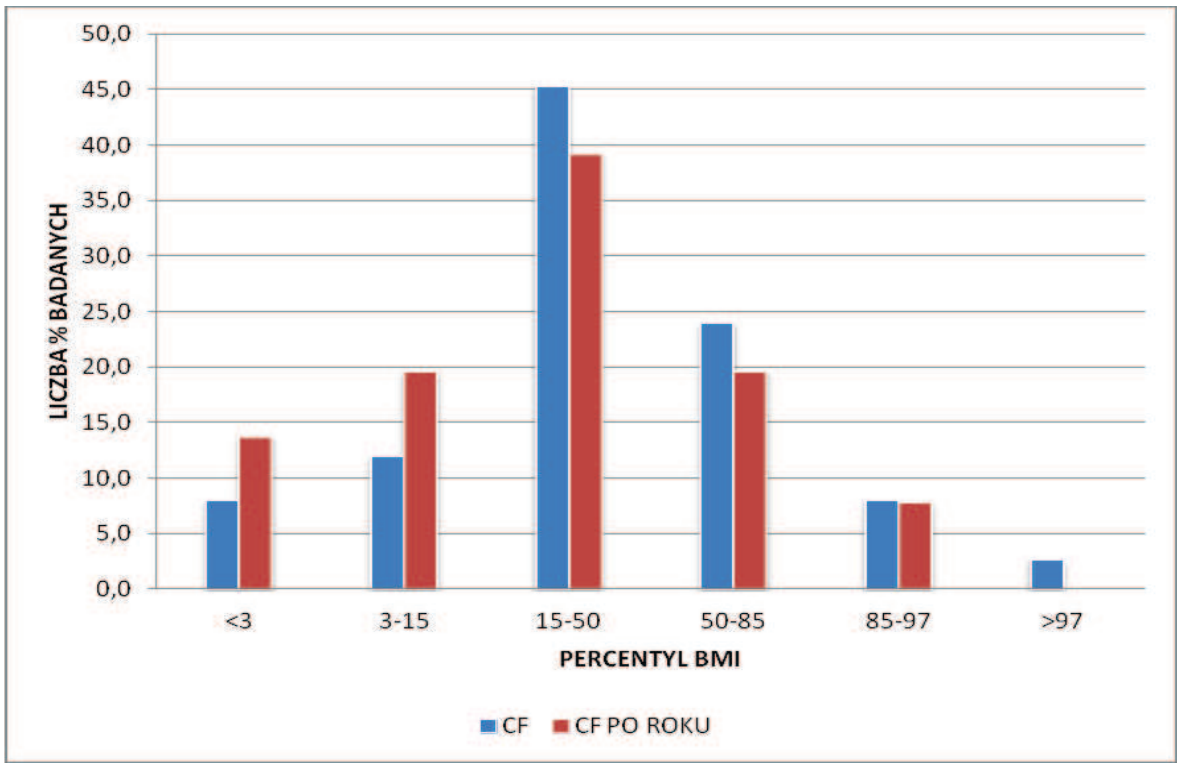


Rycina 43 Porównanie rozkładu centylowych wartości wysokości ciała w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji wg. siatek centylowych Palczewska, Niedźwiedzka (IMiDz), r.1999 [78]

Po rocznej obserwacji niedobór masy ciała obserwowano u 33,3% badanych pacjentów, natomiast u aż 13,7% stwierdzono znacznego stopnia niedożywienie (BMI ≤ 3. percentyla). Wyniki rozkładu centylowego wskaźnika BMI i analiza porównawcza tych wartości w momencie badania wstępnego i badania po roku obserwacji, zostały zaprezentowane w tabeli 52. W porównaniu z badaniem wstępnym zwiększył się odsetek dzieci charakteryzujących się niższą masą ciała (najbardziej o ok. 7,6%, w grupie dzieci z masą ciała między 3. – 15. percentylem), natomiast odsetek dzieci z masą ciała > 50. percentyla zmniejszył się, analogicznie jak w porównaniu centylowego rozkładu masy ciała dzieci z CF w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji [Ryc. 44].

Tabela 52 Porównanie rozkładu centylowych wartości wskaźnika BMI w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji

BMI	**Grupa z CF badanie wstepne (n = 75)**		**Grupa z CF badanie po roku (n = 51)**	
Przedział centylowy	**(n)**	**(%)**	**(n)**	**(%)**
≤ 3	6	8	7	13,7
3 - 15	9	12	10	19,6
15 - 50	34	45,3	20	39,2
50 - 85	18	24	10	19,6
85 - 97	6	8	4	7,8
≥ 97	2	2,7	0	0



Rycina 44 Porównanie rozkładu centylowych wartości wskaźnika BMI w grupie dzieci z CF w momencie badania wstepnego i po roku obserwacji wg siatek centylowych WHO

4.2.2. Ocena porównawcza wyników analizy składu ciała u dzieci z CF przeprowadzonej w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji

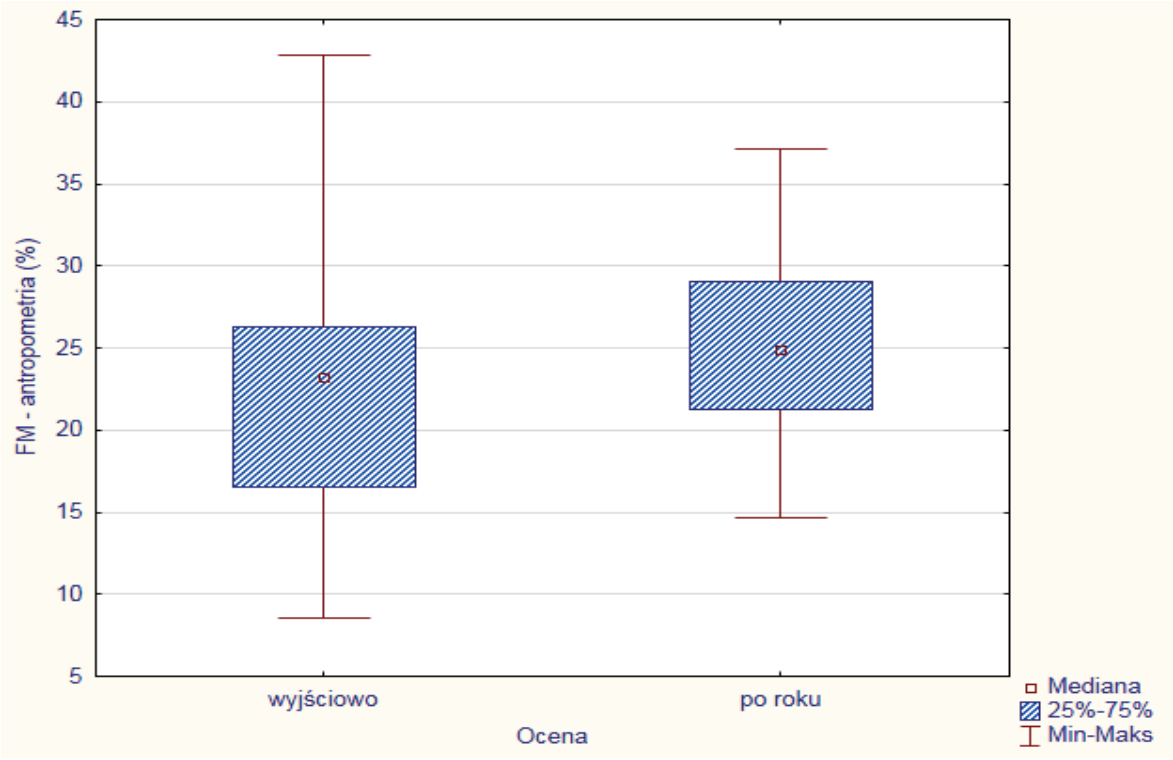
Następnie poddano analizie skład ciała dzieci z CF po roku od badania wstępnego, a otrzymane wyniki badania antropometrycznego i bioimpedancji porównano z parametrami otrzymanymi podczas pierwszego badania dzieci [Tab.53].

Tabela 53 Porównanie średnich wartości składowych ciała u dzieci w CF uzyskanych w dniu badania wstępnego i po roku obserwacji

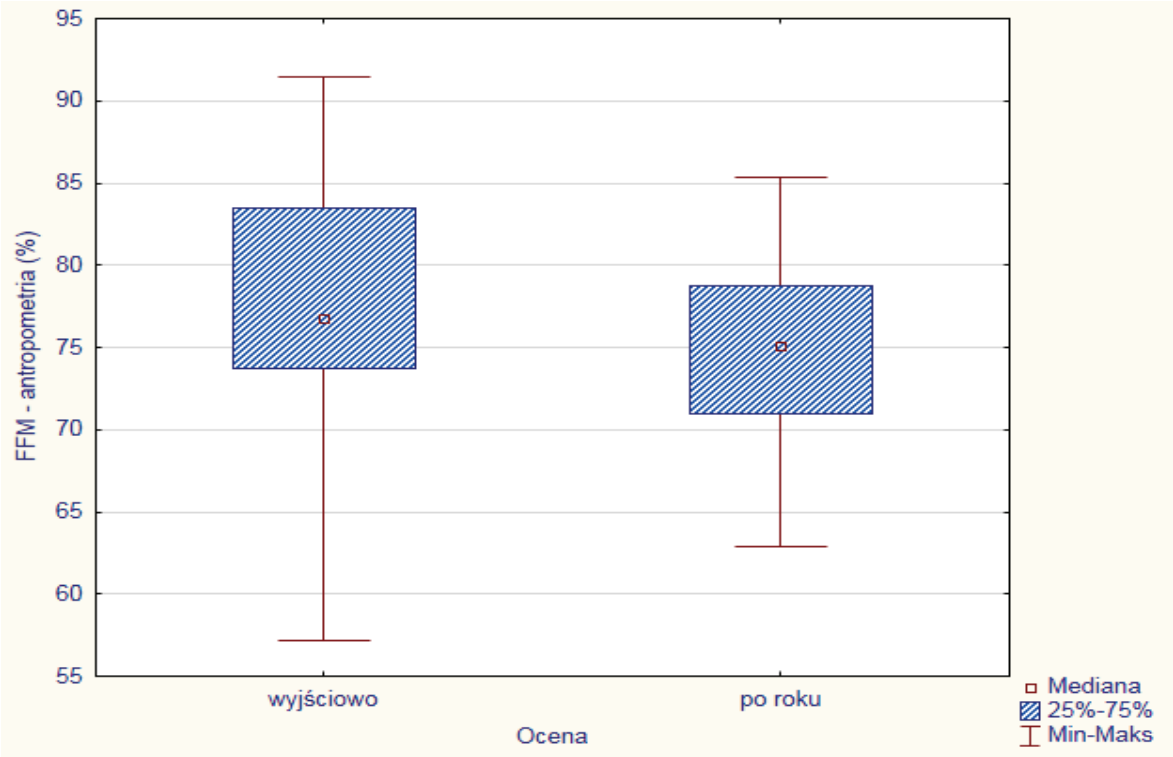
Parametr	Grupa dzieci z CF badanie wstępne			Grupa dzieci z CF badanie po roku			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Antropometria FFM [%]	75	77,5	6,5	51	75,2	5,5	0,003
Antropometria FM [%]	75	22,5	6,5	51	24,8	5,5	0,003
Wskaźnik Frisancho	75	14,9	2,7	51	14,7	2,3	0,018
BIA – FFM [kg]	75	25,2	12,5	51	29,6	13,3	0,000
BIA – FFM [%]	75	81,2	10,9	51	82,7	6,4	0,771
BIA – FM [kg]	75	5,8	3,8	51	6,7	4,9	0,399
BIA – FM [%]	75	17,6	6,0	51	17,3	6,4	0,896
BIA – TBW [L]	75	18,6	8,6	51	21,1	7,6	0,000
BIA – TBW [%]	75	62,2	6,7	51	61,8	6,2	0,201

Parametr	Grupa dzieci z CF badanie wstępne			Grupa dzieci z CF badanie po roku			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
BIA – ECW [L]	75	7,1	3,7	51	8,2	3,5	0,000
BIA – ECW [%]	75	38,1	4,1	51	38,8	4,8	0,521
BIA – ICW [L]	75	11,5	5,1	51	12,8	4,5	0,001
BIA – ICW [%]	75	61,9	4,1	51	61,2	4,8	0,521
BIA – ECW/ICW	75	0,6	0,1	51	0,6	0,1	0,460
BIA masa mięśniowa [kg]	75	10,6	6,3	51	12,2	6,0	0,000

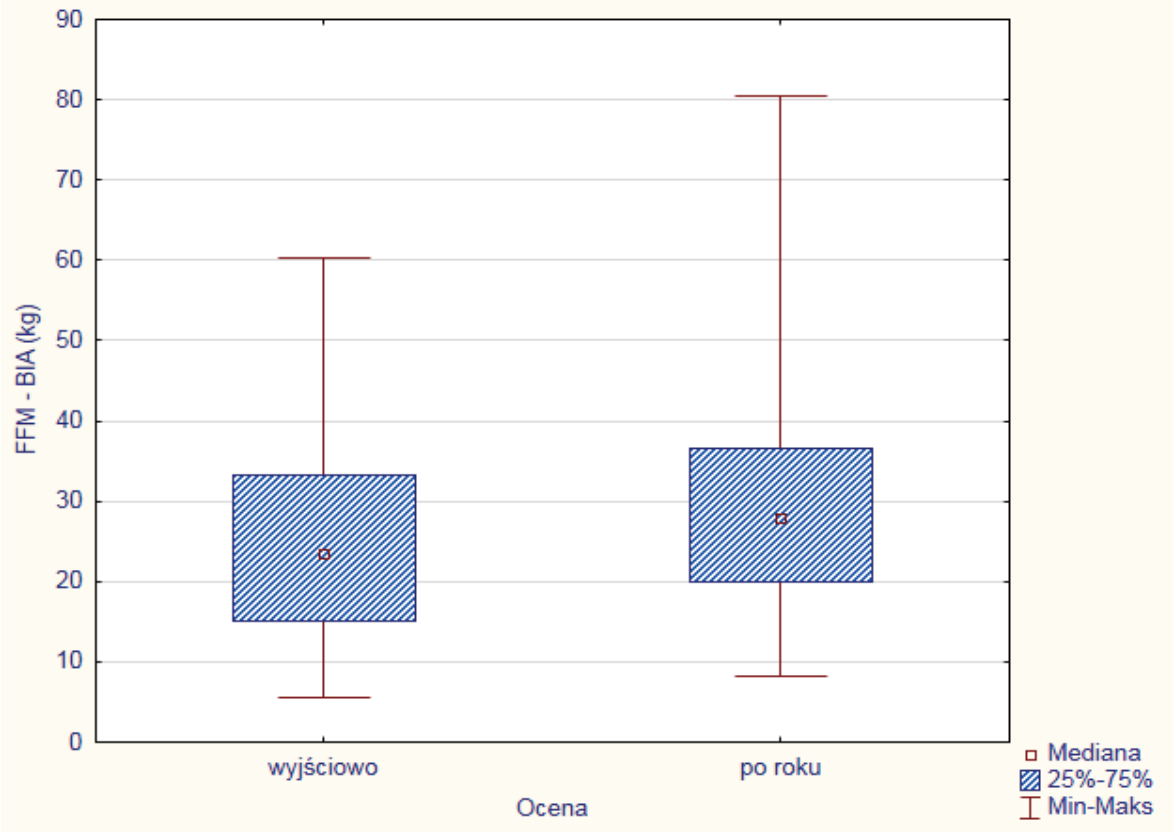
W wyniku obliczeń statystycznych stwierdzono, że dzieci po roku od badania wstępnego mają istotnie (p = 0,003) procentową wyższą średnią zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie, tendencja ta jest widoczna w wynikach z badania antropometrycznego [Ryc. 45]. Analizując różnice w średniej procentowej zawartości masy beztłuszczowej w obu grupach dzieci, w wyniku badania antropometrycznego wnioskujemy, że średnia masa beztłuszczowa istotnie obniża się u dzieci po roku od badania wstępnego (p = 0,003) [Ryc. 46]. Natomiast w badaniu bioimpedancji bezwzględna średnia ilość masy beztłuszczowej wyrażona w kg podwyższa się (p = 0,000) [Ryc. 47]. Podobnych tendencji wzrostowych nie obserwujemy w badaniu bioimpedancji dotyczącej średniej procentowej zawartości masy beztłuszczowej ciała.



Rycina 45 Porównanie średniej procentowej zawartości masy tłuszczowej określonej przy pomocy badania antropometrycznego organizmu w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,003)

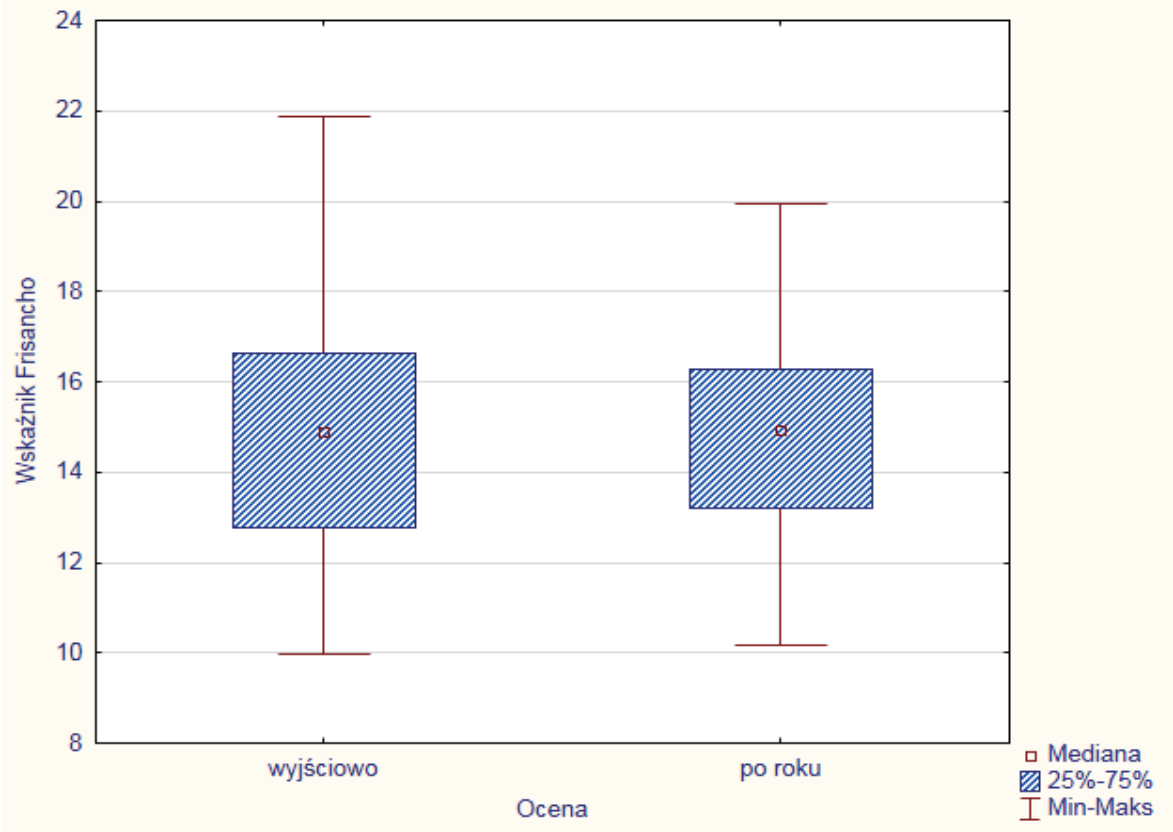


Rycina 46 Porównanie średniej procentowej zawartości masy beztłuszczowej określonej przy pomocy badania antropometrycznego organizmu w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,003)



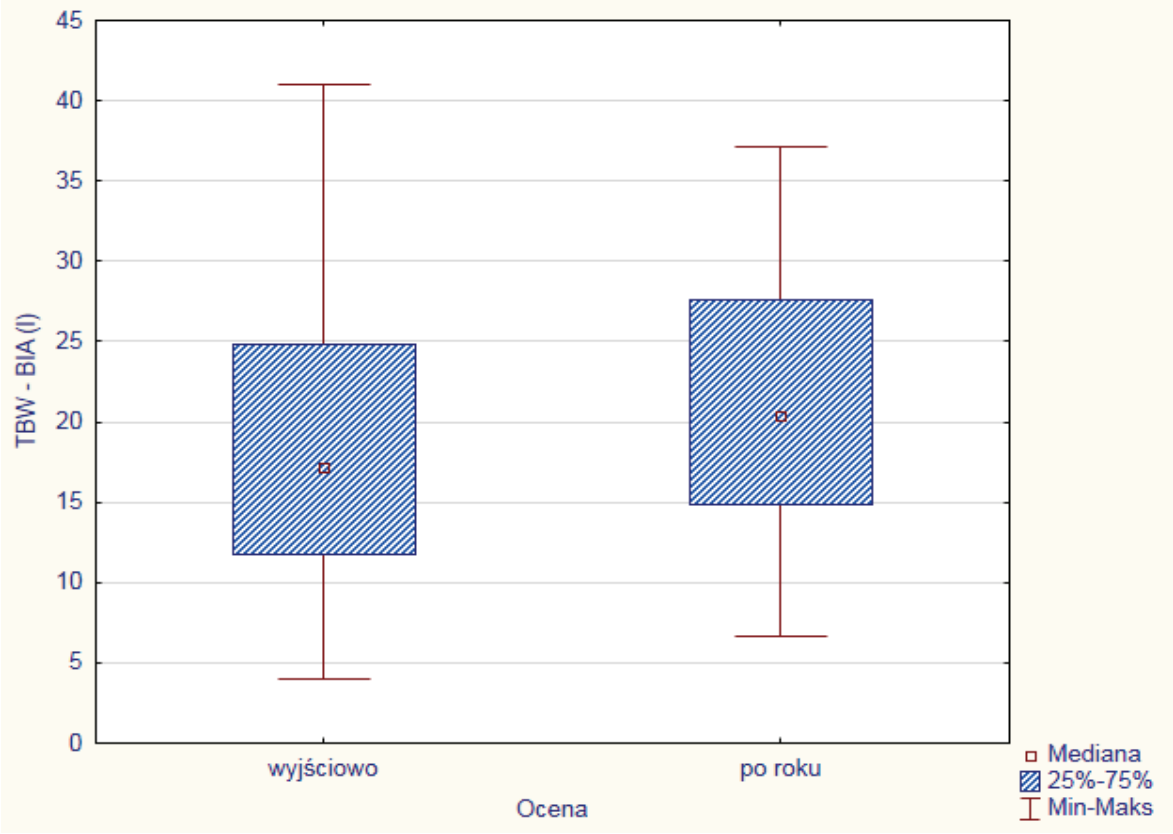
Rycina 47 Porównanie średniej bezwzględnej zawartości masy beztłuszczowej określonej przy pomocy badania bioimpedancji organizmu w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)

Masa mięśniowa wyrażona za pomocą wskaźnika Frisancho po roku obserwacji jest niższa w porównaniu do wyników z badania wstępnego, a różnice te są istotne statystycznie (p = 0,018) [Ryc. 48].

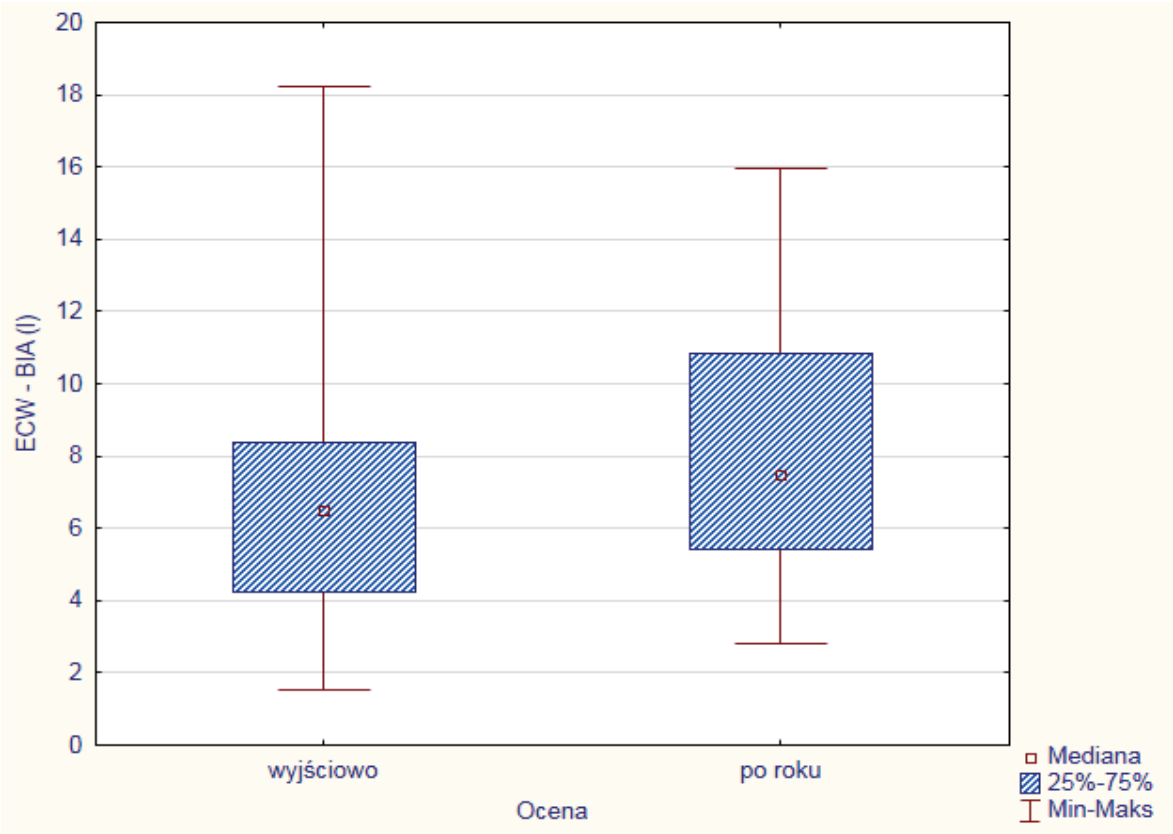


Rycina 48 Porównanie średniej zawartości masy mięśniowej wyrażonej za pomocą wskaźnika Frisancho określonego przy pomocy badania antropometrycznego organizmu w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,018)

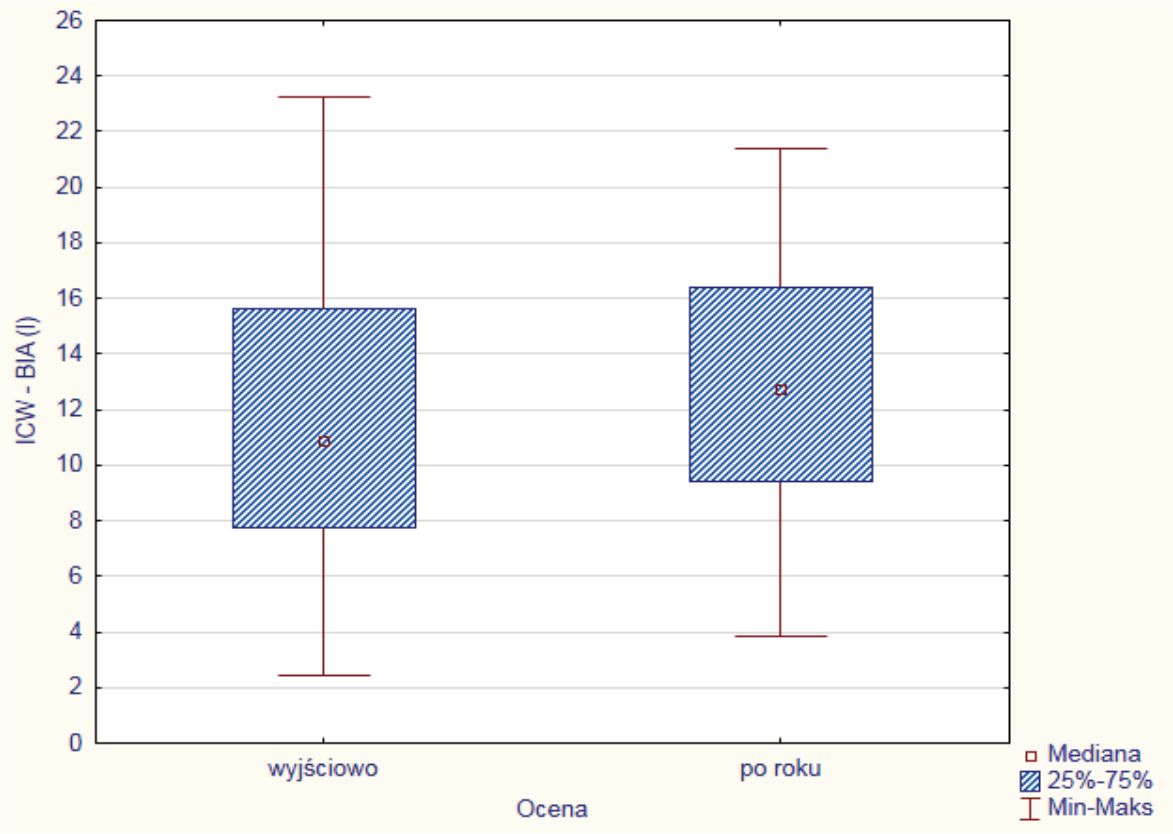
Wykazano, że średnia zawartość całkowitej wody w organiźmie [L] zwiększyła się przez rok, przy dodatkowym zwiększeniu jej komponenty wewnątrzkomórkowej i zewnątrzkomórkowej [Ryc. 49 – 51]. Podobnych tendencji nie obserwowano w przypadku średniej procentowej zawartości wody w organizmie.



Rycina 49 Porównanie średniej bezwzględnej zawartości całkowitej wody w organizmie określonej przy pomocy badania bioimpedancji w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)



Rycina 50 Porównanie średniej bezwzględnej zawartości wody zewnątrzkomórkowej w organizmie określonej przy pomocy badania bioimpedancji w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)



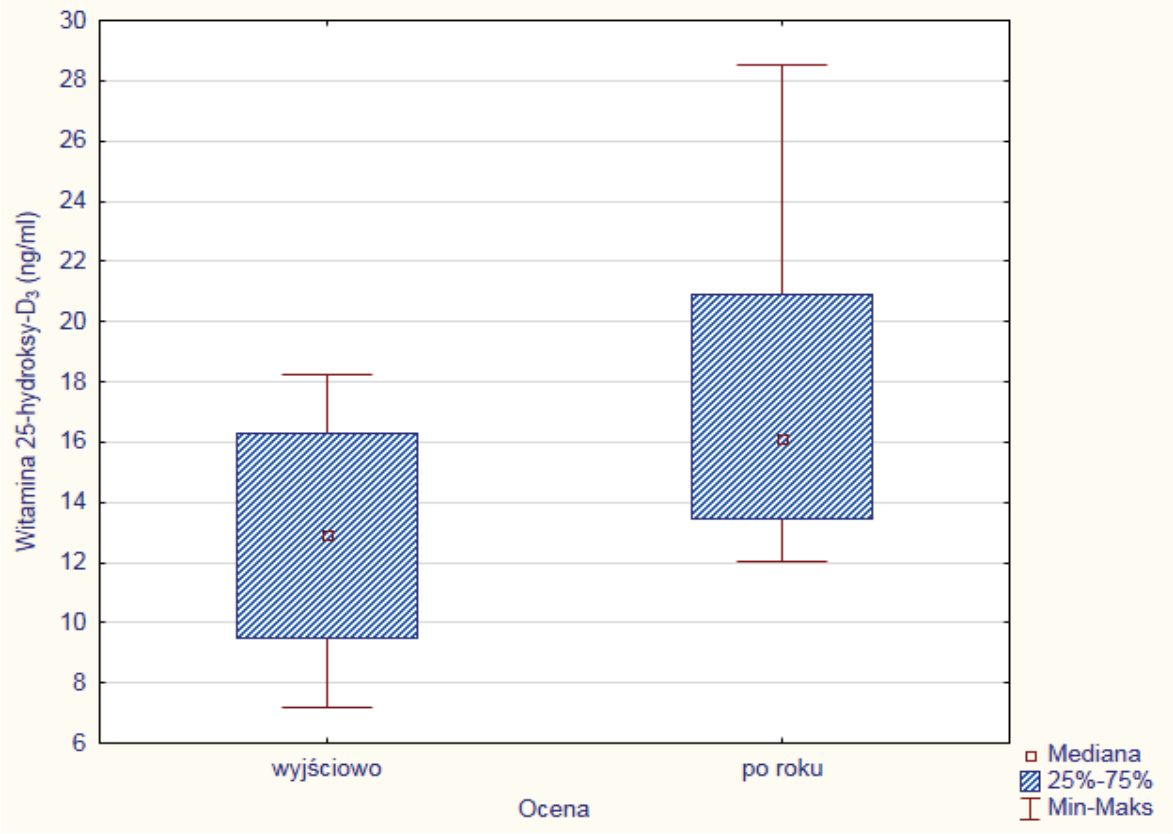
Rycina 51 Porównanie średniej bezwzględnej zawartości wody wewnątrzkomórkowej wody w organizmie określonej przy pomocy badania bioimpedancji w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,001)

4.2.3. Ocena porównawcza wyników badań biochemicznych u dzieci z CF przeprowadzonych w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji

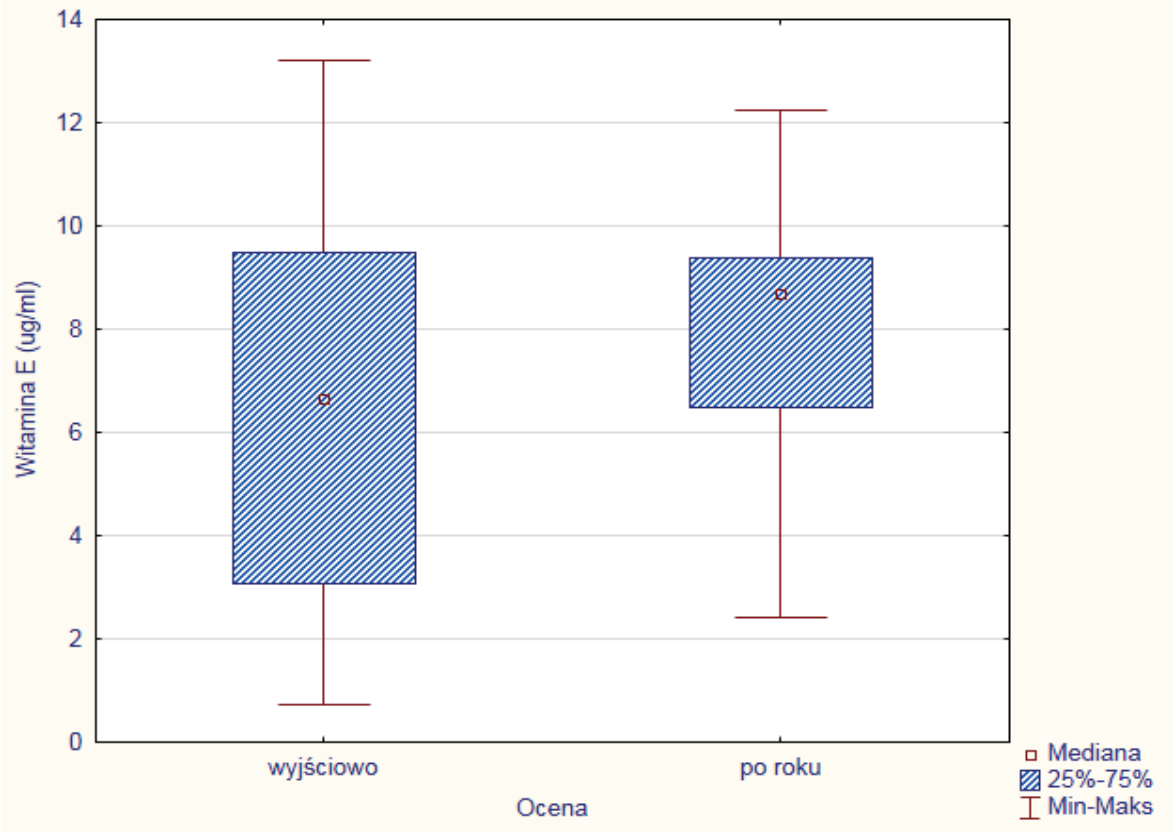
Przeanalizowano różnice w średnim stężeniu określonych parametrów biochemicznych niezbędnych do oceny stanu odżywienia w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF. W wyniku obliczeń statystycznych okazało się, że istotnie statystyczne różnice dotyczą witamin 25(OH)D_3 oraz witaminy E [Tab. 54], obserwowano podwyższenie ich średniego stężenia [Ryc. 52 i 53]. Nie obserwowano istotnych zmian w zakresie średniego stężenia witaminy K1, ich średnie stężenie po roku obserwacji utrzymywało się na podobnym poziomie.

Tabela 54 Porównanie średnich wartości parametrów biochemicznych oceny stanu odżywienia u dzieci w CF uzyskanych w dniu badania wstępnego i po roku obserwacji

Parametr	Grupa dzieci z CF badanie wstępne			Grupa dzieci z CF badanie po roku			p
	n	średnia	SD	n	średnia	SD	
Witamina A w surowicy [µg/ml]	74	0,8	0,2	51	1,0	1,1	0,303
25(OH)D_3 w surowicy [ng/ml]	74	13,0	3,3	51	17,4	4,5	0,000
Witamina E w surowicy [µg/ml]	74	6,1	3,4	51	8,0	2,1	0,001
Witamina K1 w surowicy [ng/ml]	74	0,4	0,2	50	0,4	0,2	0,731



Rycina 52 Porównanie średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3 w surowicy w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,000)



Rycina 53 Porównanie średniego stężenia witaminy E w surowicy w momencie badania wstępnego i po roku obserwacji u dzieci z CF (p = 0,01)

5. Podsumowanie wyników

5.1. I etap badania - badanie przekrojowe

I. Ocena występowania zaburzeń rozwoju fizycznego, stanu odżywienia oraz składu ciała u dzieci z CF:

a) Ocena występowania zaburzeń rozwoju fizycznego i stanu odżywienia.

- Obserwowano tendencję do niższych średnich wartości masy ciała dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej (p = 0,073). Chłopcy z CF mieli niższą średnią masę ciała niż chłopcy z grupy referencyjnej (p = 0,045). Nie obserwowano różnic w masie ciała porównując dziewczęta z obu grup (p = 0,625). Niedobór masy ciała występował u 28% badanych pacjentów, z czego u 13 dzieci (17,33%) stwierdzono niedożywienie znacznego stopnia (< 3. percentyla).
- Nie wykazano istotnych różnic średniej wysokości ciała dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej. Obserwowano bliską istotności statystycznej różnicę między średnią wysokością ciała chłopców z grupy z CF, a średnią wysokością chłopców z grupy referencyjnej (p = 0,058). Niskorosłość (< 3. percentyla) odnotowano u 14 pacjentów (18,67%).
- Średni obwód ramienia był mniejszy u dzieci z grupy badanej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami (p = 0,019), różnice dotyczyły obu płci.
- Średnia grubość fałdu skórno-tłuszczowego nad mięśniem trójgłowym ramienia była istotnie mniejsza niż u dzieci z grupy referencyjnej (p = 0,000).
- Średnia grubość fałdu skórno – tłuszczowego pod łopatką była mniejsza u dzieci z grupy referencyjnej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami (p = 0,000).
- Wartość wskaźnika BMI była niższa u dzieci z grupy badanej w porównaniu ze zdrowymi rówieśnikami (p = 0,015). Dziewczęta z grupy badanej miały istotnie niższe średnie wartości wskaźnika BMI w porównaniu z dziewczętami z grupy referencyjnej (p = 0,0143). Analogicznie u chłopców z grupy badanej obserwowano niższe wartości wskaźnika BMI niż u chłopców z grupy referencyjnej (p = 0,0179).
- Niedobór masy ciała obserwowano u 20% badanych pacjentów, natomiast u 8 dzieci (8%) stwierdzono wyniszczenie (BMI ≤ 3. percentyla).

b) Ocena występowania zaburzeń składu ciała.

- Na podstawie badań antropometrycznych stwierdzono, że średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej różnił się istotnie w obu badanych grupach (p = 0,000). W grupie dzieci z CF był niższy niż w grupie referencyjnej. Średni procentowy udział FFM był wyższy

u dzieci CF (p = 0,000). Nie wykazano różnic w wartości wskaźnika Frisancho u dzieci z grupy badanej i w grupie referencyjnej (p = 0,222). Określono stopień udziału tkanki tłuszczowej w ogólnej masie ciała przy pomocy impedancji bioelektrycznej. W badanych grupach średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej nie różnił się istotnie. W badanych grupach średni procentowy udział masy beztłuszczowej nie różnił się istotnie. Dziewczęta z CF miały średnio większą zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie niż chłopcy (p = 0,006). Chłopcy charakteryzowali się większą średnią procentową zawartością masy beztłuszczowej w organizmie niż dziewczęta (p = 0,001). Obserwowano tendencję do niższych wartości bezwzględnej ilości TBW [L] w grupie dzieci z CF, różnice te były bliskie istotności (p = 0,080), przy jednoczesnym obniżeniu ICW [L] u dzieci w tej grupie (p = 0,049).

c) Ocena porównawcza dwóch metod oceny stanu odżywienia:

- Obserwowano słabą korelację w ocenie składu ciała badając dwie jego komponenty: FM (p = 0,012; R = 0,288) i FFM (p = 0,059, R =0,219) oraz silną korelację badając masę mięśniową (p = 0,000; R = 0,817) metodą antropometrii i bioimpedancji.

II. Analiza stężenia witamin A, 25(OH)D_3, E, K1 i zawartości kwasów tłuszczowych we krwi oraz wydalania C w moczu u dzieci z CF.

- Wykazano, istotnie statystycznie obniżenie średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3 (p = 0,000) witaminy E (p = 0,000) oraz witaminy K1 (p = 0,026) w surowicy u dzieci chorych w stosunku do dzieci zdrowych. Nie wykazano istotnej różnicy średniego stężenia witaminy A w surowicy w obu badanych grupach

- Nie wykazano istotnej różnicy średniego stężenia witaminy C w moczu w obu badanych grupach.

- Średnia procentowa zawartość we krwi kwasów tłuszczowych nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych oraz kwasów n-6 i n-3 była podobna w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej. Nie obserwowano istotnych różnic w zakresie ilorazu kwasów n-6 do n-3. Zaobserwowano różnice jakościowe w profilu kwasów tłuszczowych w poszczególnych grupach, a różnice te były istotne statystycznie. Średnia procentowa zawartość kwasu mirystynowego , kwasu lignocerynowego była podwyższona we krwi dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej. Obserwowano obniżenie średniego procentowego udziału kwasu behenowego w grupie dzieci z CF. U dzieci chorych średni procentowy udział następujących kwasów jednonienasyconych, spośród całej puli kwasów tłuszczowych był zwiększony: kwasu palmitoleinowy, margarooleinowy, wakcenowy, erukowy. Obserwowano zwiększenie średniego procentowego udziału spośród całej puli kwasów tłuszczowych następujących kwasów n-6: kwasu γ-linolenowego oraz kwasu dihomo-γ-linolenowego. Tylko w przypadku jednego kwasu n–6 obserwowano obniżenie

średniej wartości procentowego udziału w ogólnej badanej puli kwasów tłuszczowych, był to kwas linolowy. W przypadku kwasów wielonienasyconych n-3, tylko jeden kwas tłuszczowy - kwas heksadekatrienowy różnił się procentowym udziałem w obu badanych grupach (p = 0,024). Nie obserwowano różnic w zakresie procentowego udziału kwasu EPA i DHA, ani pozostałych badanych kwasów wielonienasyconych w obu badanych grupach.

III. Ocena związku między rozwojem fizycznym i parametrami stanu odżywienia a wydolnością układu oddechowego oraz typem mutacji genu CFTR

a) Ocena zależności między stanem odżywienia a wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych u dzieci z CF

- Odnotowano istotną statystycznie korelację pomiędzy stanem odżywienia, wyrażonym w percentylu masy ciała i FEV_1 % (p = 0,007; R = 0,360) FVC% (p = 0,007; R = 0,361) FEF_{25-75}% (p = 0,001; R = 0,420) oraz percentylu wysokości ciała i FEF_{25-75}% (p = 0,002; R = 0,408) badanych dzieci z CF.

- Nie wykazano obecności żadnej korelacji pomiędzy wskaźnikiem masy ciała (BMI) oraz procentowymi wartościami FFM uzyskanej badaniem antropometrii i bioimpedancji, a kolonizacją dróg oddechowych przez poszczególne patogeny (*Pseudomonas aeruginisa, Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia*) i florę fizjologiczną (*Paciorkowce zieleniejące, Neisseria spp*) u dzieci z CF.

- Wykazano, że średnie stężenie witaminy E było istotnie wyższe u tych dzieci z CF u których nie występowała kolonizacja dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* (p = 0,031).

- Nie obserwowano związku między procentowym udziałem nienascyonych kwasów tłuszczowych we krwi,a kolonizacją dróg oddechowych przez patogeny - *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia* oraz florą fizjologiczną.

b) Ocena związku między rozwojem fizycznym i parametrami stanu odżywienia a typem mutacji genu CFTR

- U dzieci z CF nie obserwowano zależności między badanymi parametrami stanu odżywienia a występowaniem określonej mutacji genu CFTR.

5.2. II etap badania - badanie prospektywne

I. Porównanie wyników badania cech somatycznych przeprowadzonego u pacjentów z CF w dniu badania wstępnego i po roku obserwacji.

- Po roku od badania wstępnego średnia masa ciała dzieci z CF istotnie wzrosła (p = 0,000), analogiczną tendencję wzrostową zauważono w przypadku wysokości ciała (p = 0,000).

Obserwowano również zwiększenie średniej grubości fałdu skórno tłuszczowego pod łopatką (p = 0,006) i nad mięśniem trójgłowym (p = 0,006).

- Po roku obserwacji niedobór masy ciała był obserwowany u 41,2% pacjentów, z czego 10 dzieci (19,6%) stwierdzono silne niedożywienie (< 3. percentyla). W porównaniu z badaniem wstępnym zwiększył się odsetek dzieci z niższą masą ciała (o 11%, w grupie dzieci z masą ciała 3. – 10. percentyl), a odsetek dzieci z masą ciała > 50. percentyla zmniejszył się.
- Po roku obserwacji niskorosłość rozpoznano u 21,6% pacjentów z CF. W porównaniu z badaniem wstępnym zwiększył się odsetek dzieci z niższą wysokością ciała o ok. 3%, w grupie dzieci z wysokością ciała < 3. percentyla. Obserwowano jednocześnie wzrost odsetka dzieci w przedziale 25. – 50. percenyla wysokości ciała o ok. 6%.
- Po rocznej obserwacji 33,3% badanych dzieci z CF miało wartości centylowe BMI < 15 percentyla, a 13,7% ≤ 3. percentyla (niedożywienie znacznego stopnia).
- Na podstawie badania antropometrycznego wykonanego po roku obserwacji stwierdzono, że dzieci z CF mają wyższą średnią zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie (p = 0,003) i niższą średnią zawartość masy beztłuszczowej (p = 0,003). Masa mięśniowa wyrażona za pomocą wskaźnika Frisancho po roku obserwacji jest niższa w porównaniu do wyników z badania wstępnego, a różnice te są istotne statystycznie (p = 0,018). W badaniu bioimpedancji bezwzględna średnia ilość masy beztłuszczowej wyrażona w kg podwyższa się. Średnia zawartość całkowitej wody w organizmie [L] zwiększyła się przez rok (p = 0,000), przy dodatkowym zwiększeniu jej komponenty wewnątrzkomórkowej i zewnątrzkomórkowej.

II. Porównanie wyników badań biochemicznych u pacjentów przeprowadzonych w dniu badania wstępnego i po rocznej obserwacji

- Średnie stężenie witaminy 25(OH)D_3 i witaminy E istotnie podwyższyło się po roku od badania wstępnego u dzieci z CF. Nie obserwowano istotnych zmian w zakresie średniego stężenia witaminy K1.

6. Dyskusja

Mukowiscydoza jest jedną z najczęściej występujących chorobą genetycznie uwarunkowaną o autosomalnym recesywnym typie dziedziczenia wśrod rasy kaukaskiej [192]. W latach 2006 - 2010 w Polsce w skriningu noworodkowym, CF wykryto u 221 pacjentów. W tym okresie łącznie przebadano 1 212 487 noworodków. Na podstawie powyższych danych wskaźnik zapadalności na CF w polskiej populacji oszacowano na 1/4394 [193]. W dobie ogromnego postępu w diagnostyce oraz w leczeniu mukowiscydozy, stwarzającego nowe możliwości szczegółowego i szybkiego rozpoznania oraz prowadzenia nowoczesnych metod terapeutycznych nadal borykamy się z problemami wynikającymi z samej choroby, ale również ważnym wyzwaniem dla ośrodków zajmujących się pacjentami z CF są jej powikłania. Liczne zaburzenia metaboliczne, bedące elementem patofizjologii mukowiscydozy prowadzą do niedożywienia. Czy niedożywienie zatem nadal pozostaje nieuchronnym następstwem tej choroby [194]?

Podejmując próbę odpowiedzi na powyższe wątpliwości, podjęto się zbadania populacji dzieci z mukowiscydozą, zadając sobie pytanie, czy stan ich odżywienia różni je od zdrowych rówieśników. Jeśli tak, to czy istnieje związek pomiędzy stanem ich odżywienia, a przebiegiem klinicznym ich choroby, rozumianym jako przebieg choroby oskrzelowo – płucnej, w tym wydolnością układu oddechowego oraz jaki jest dynamizm stwierdzanych nieprawidłowości na przestrzeni czasu.

Stan odżywienia może być oceniany za pomocą wielu metod. Nie ma złotego standardu oceniającego stan odżywienia u dzieci. Uważa się, że tylko kilka metod oceny stanu odżywienia zastosowanych jednocześnie może dać szerokie informacje na temat stanu odżywienia. Według prof. Walkowiaka szczególnie u chorych z CF w pogłębionej ocenie stanu odżywienia, istnieje potrzeba całościowej oceny wykładników rozwoju [195]. W przypadku osób chorych na mukowiscydozę, ocena stopnia rozwoju fizycznego stanowi ważny czynnik prognostyczny przebiegu choroby oraz długości życia chorego. Badania Sharmy i wsp. ujawniły, że niedożywienie stanowi istotny czynnik rokowniczy co do dalszego trwania życia [112].

Pomocnym i najczęściej stosowanym badaniem służącym ocenie stanu odżywienia jest ocena masy i wysokości ciała w odniesieniu do norm wiekowych zawartych w tabelach i siatkach centylowych. Obniżenie kanału centylowego dla wysokości ciała świadczy o przewlekłym niedożywieniu. Według Patel L. i wsp. wysokość ciała odniesiona do siatek centylowych jest dobrym wykładnikiem stanu odżywienia, przy czym wydaje się być bardziej wiarygodnym czynnikiem rokowniczym u dzieci starszych. Opóźnienie tempa wzrastania ma związek nie tylko z gorszym odżywieniem, lecz również z przewlekłym stanem zapalnym oraz stosowaniem sterydoterapii u dzieci z CF [196]. Wysokość ciała jest również uważana przez Becker i wsp., jako czynnik prognostyczny czasu przeżycia w mukowiscydozie. Badacze wykazali, iż prawdopodobieństwo zgonu u osób o wysokości ciała poniżej 5. centyla jest przynajmniej

3- krotnie wyższe, niż u osób, których wysokość ciała plasuje się powyżej 3. percentyla [86].

W Polsce powszechnie są stosowane siatki centylowe opublikowane w 1999 roku przez Palczewską i Niedźwiedzką z Instytutu Matki i Dziecka. Siatki centylowe masy ciała, wysokości, obwodu głowy i wskaźnika BMI w stosunku do wieku, powstały na podstawie badań antropometrycznych dzieci warszawskich w wieku od 1 miesiąca do 18 roku życia [78]. Jednak siatki centylowe dla wskaźnika BMI obejmują dzieci dopiero od 4 roku życia, co uniemożliwia u dzieci młodszych analizę stanu odżywienia na podstawie centylowych wartości wskaźnika BMI. W celu uaktualnienia obowiązujących norm antropometrycznych, w związku z akceleracją wzrostu wśród nowych pokoleń, w latach 2007 - 2012 przeprowadzono badania antropometryczne wśród dzieci w wieku 2,5 - 18,5 roku. Dwa ogólnopolskie projekty badawcze powstały pod nazwą OLAF i OLA, a wyniki zostały w całości opublikowane w Standardach Medycznych – Pediatria w 2015 roku. Opracowane normy są obecnie najnowszymi rekomendowanymi narzędziami do podstawowej oceny rozwoju fizycznego w populacji dzieci Polskich, jednak nadal nie odnoszą się do dzieci młodszych, poniżej 2,5 roku życia [197]. Z tego względu na podstawie opinii ekspertów reprezentujących wiodące ośrodki naukowe w zakresie antropologii i pediatrii, jako obowiązujące uznano siatki centylowe opublikowane przez WHO, które zostały opracowane na podstawie badań prowadzonych w latach 1997-2003 na reprezentatywnej grupie dzieci z Afryki, Azji, Europy, Ameryki Łacińskiej i Północnej. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że przy zapewnieniu optymalnych warunków życia rozwój fizyczny dzieci pochodzących z różnych grup etnicznych jest podobny [79], [80].

W pracy VJ. Poustie i wsp., w której porównywano różne parametry antropometryczne u chorych z CF w celu określenia niedożywienia, wykazano, że najczulszym wskaźnikiem niedożywienia jest wartość BMI w odniesieniu do wieku. Parametr ten najlepiej oddawał stan niedożywienia i był niezależnym wyznacznikiem funkcji płuc wyrażonej w FVC [198]. Zaletą wskaźnika BMI jest to, że parametry te oblicza się na podstawie danych uzyskanych z podstawowych i prostych pomiarów antropometrycznych (masy i wysokości ciała). Jednak wysoka czułość wskaźnika BMI jest kwestionowana przez innych autorów. Według Tutak-Słupskiej M. i wsp. [199] wartość wskaźnika BMI może być zrównoważona wskutek podwójnego deficytu masy ciała i wysokości, które mogą współwystępować u dzieci z CF. Autorzy tej pracy sugerują, że istnieje potrzeba skonstruowania nowego wskaźnika stanu odżywienia u dzieci z CF opartego na iloczynie wartości centyla wysokości oraz masy ciała. Podkreślają, że uzyskanie takiego wskaźnika uwypukli zmiany w masie i wysokości ciała dzieci z CF. Ponadto BMI odnosząc się do masy ciała, nie musi odzwierciedlać udziału w niej tkanki tłuszczowej i zmian jej udziału w stosunku do masy mięśniowej [200]. Inni autorzy uważają natomiast, że BMI jest wskaźnikiem stanu odżywienia, który wykazuje ściślejszą korelację z zawartością tłuszczu niż z wysokością ciała [201]. Jednak BMI nie jest parametrem miarodajnym w przypadku obecności obrzęków, obecności przesięku czy wysięku w jamach ciała u badanych pacjentów [202].

Niewiele jest prac oceniających stan odżywienia u dzieci z mukowiscydozą pochodzących z polskich ośrodków. Zaburzenie proporcji wagowo – wzrostowych u dzieci z mukowiscydozą wykazano w badaniach prowadzonych w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie (IMiD). Dzieci z CF od zdrowych rówieśników istotnie różni: obniżony wskaźnik BMI, zmniejszony obwód ramienia i obwód mięśni ramienia wyrażony za pomocą wskaźnika Frisancho [190], a także skąpa tkanka tłuszczowa [123]. W 2006 roku zostały opublikowane badania z 4- letniej obserwacji dzieci z CF ponownie z Kliniki Pediatrii IMiD, wykazały wolniejszą dynamikę rozwoju fizycznego, w tym przyrostu masy ciała i wysokości u badanych chłopców oraz wysokości u dziewcząt w stosunku do zdrowych rówieśników. Inne wyniki uzyskano oceniając stan odżywienia dzieci poznańskich za pomocą wskaźników BMI, gdzie nie wykazano przewagi deficytu masy ciała w stosunku do wysokości [119]. Wyniki badań wśród dzieci z województwa wielkopolskiego wskazują, iż mimo postępu w leczeniu żywieniowym nadal obserwuje się niedobory wysokości i masy ciała z utrzymującą się niewielką przewagą deficytu masy ciała [203]. Równoczesne obniżenie wykładników stanu odżywienia (BMI i wysokości) obserwowano w wielu dotychczas przeprowadzonych analizach [114][204]. Próbę oceny stanu odżywienia dzieci z CF podjęli w 2012 roku Tutak - Słupska M. i wsp., którzy zaobserwowali niedobory masy ciała (<10. percentyla) u aż 40% badanych dzieci z CF w ośrodku bydgoskim , aż 24% spośród nich wykazywala cechy niedożywienia znacznego stopnia (< 3. percentyla). Dodatkowo, u 28% dzieci zaobserwowano niedobór wysokości (< 10. percentyla), z czego aż u 16% niskorosłość (< 3. percentyla) [199].

Średni wskaźnik BMI u badanych dzieci z CF w ramach bierzącego projektu był istotnie obniżony w stosunku do grupy referencyjnej. Zaobserwowano również, że średnia masa ciała dzieci z CF była niższa niż w grupie dzieci zdrowych , jakkolwiek różnica nie osiągnęła poziomu istotności statystycznej. Antropometryczne cechy niedożywienia wykazano u 28%, u 13% chorych dzieci z CF rozpoznano niedożywienie znacznego stopnia (< 3. percentyla). Umławska i wsp. w 2012 roku wykazała, że niedożywienie dotyczy blisko 50 % dzieci badanych , w tym u 8% stwierdzono stan skrajnego niedożywienia (< 3. percentyla) [205].Wydaje się, zmniejszenie odsetka dzieci niedożywionych z CF na przestrzeni lat prowadzonych obserwacji jest wynikiem wielospecjalistycznej opieki, coraz wcześniejszego rozpoznawania choroby i tym samym szybszego włączania terapii u dzieci z CF.

W ciągu ostanich 20 lat mimo próby poprawy stanu klinicznego, wysokość ciała osiągnęta przez pacjentów z CF pozostała nadal poniżej przeciętnej dla populacji, a problem niedowagi i opóźnionego rozwoju fizycznego istnieje nadal u dorosłych pacjentów z CF [114], [120]. W 1998 roku dowiedziono, że przeciętnie 20% osób chorych na mukowiscydozę to osoby niskorosłe [206]. Inni autorzy wskazują, że w ciągu 30 lat (1960 - 1990) wystąpiła istotna zmiana w wysokości ciała i BMI leczonych pacjentów oraz twierdzą, że zwiększyła się wielkość przyrostu wysokości ciała podczas skoku pokwitaniowego, ale wiek w którym on występuje nie zmienił się

[115]. Aswani i wsp. wykazali, że rozwój dzieci z mukowiscydozą jest znacznie opóźniony, a wskaźniki wysokości i wagi różnią się znacznie od populacji dzieci zdrowych [207]. Jednocześnie, pojawiają się doniesienia, których wyniki świadczą o tym, że intensywna opieka medyczna, jaką otoczeni są chorzy w ośrodkach medycznych (m.in. w Danii, Australii), wyspecjalizowanych w leczeniu mukowiscydozy, przyczynia się znacząco do poprawy szybkości wzrastania oraz stanu odżywienia chorych, porównywalnych niekiedy z wartościami cech obserwowanych w populacji dzieci zdrowych [208], [209].

Ocena wysokości ciała na potrzeby pracy własnej wykazała, że 30,67% dzieci z CF miała wysokość poniżej 10. percentyla, z czego 18,67% była niskorosła (< 3. percentyla). Wartości te były nieco niższe niż uzyskane w badaniu u dzieci z CF prowadzonym w 2007 roku, wówczas odnotowano niskorosłość u 25,8% dzieci z CF [210].

W badaniu przeprowadznym po 12 miesiącach, zaobserwowano, że mimo wzrostu średniej wartości masy i wysokości ciała, odsetek dzieci z niedoborem masy ciała zwiększył się do 40,6% (wyjściowo odsetek wynosił 28%) badanych, a wśród nich, aż 21,6% (wyjściowo odsetek wynosił 13%) dzieci charakteryzowało się znacznym niedożywieniem. Jeszcze bardziej niepokojące wyniki dotyczyły wysokości ciała, niskorosłość obserwowano u aż 21,6% dzieci (wyjściowo odsetek wynosił 18,6%). Pomiary dzieci objętych badaniem na potrzeby tej pracy wskazują, że parametry antropometryczne pogarszały się wraz z wiekiem chorych, zwłaszcza w aspekcie masy ciała. Zaburzenia stanu odżywienia narastają więc z wiekiem.

Dzieci u których rozpoznanie postawiono w pierwszym roku życia osiągają wyższe wartości parametrów rozwoju osobniczego fizycznego oraz stanu odżywenia. Potwierdzają to badania przedstawione przez Farrell P.M. i wsp., którzy dokonali porównania dwóch grup dzieci z CF. W pierwszej z nich chorobę zdiagnozowano w 12-tym tygodniu życia, w drugiej z 72-gim tygodniu. Wyniki tej pracy wykazały, że dzieci z później rozpoznaną mukowiscydozą rozwijały się fizycznie gorzej, co miało przełożenie na wartości parametrów antropometrycznych. Wykazano również, że w miarę wzrastania znamienna różnica między grupami utrzymała się jedynie w zakresie wskaźnika wzrostu do wieku [211][212].

Mimo stosowania tych samych standardów leczenia (w Polsce obowiązują standardy europejskie), istnieją różnice w stanie odżywienia dzieci z CF w ośrodkach w Polsce i na świecie, co może wiązać się odmiennymi warunkani socjalno – bytowymi pacjentów, różnicą w zakresie nakładów na leczenie i opiekę oraz nierównomierną dostępnością do świadczeń. Różnice w przebiegu choroby mogą również świadczyć o dużej zmienności fenotypowej choroby, modyfikowanej przez środowisko.

W związku z uzyskanymi wynikami badań z pracy własnej, ważne było dokonanie oceny związku stanu odżywienia w tym wysokości ciała, będącą uznanym czynnikiem rokowicznym, ze stanem klinicznym, rozumianym jako zaawansowanie choroby oskrzelowo-płucnej. Uważa się bowiem, że spadek wartości FEV_1% poniżj 30% wartości należnej zmniejsza istotnie szanse

przeżycia kolejnych dwóch lat do 50% [213].

W pracy niemieckiej w badaniu kohortowym 3289 pacjentów populacji dziecięcej z CF wykazano, że we wszystkich grupach wiekowych u pacjentów z prawidłową masa ciała obniżenie FEV_1 jest znacznie mniej nasilone niż u pacjentów niedożywionych. Spadek masy ciała w stosunku do wysokości powyżej 5% w stosunku do należnej przez okres jednego roku związany był z równoległym spadkiem wartości FEV_1, podczas gdy u pacjentów z prawidłową masą ciała wartości FEV_1 utrzymywały się na tym samym poziomie lub wzrastały [113]. Podobne obserwacje opisywał wcześniej Zemel i wsp.[214].

Przedstawione wyniki badań pracy własnej potwierdzają, związek pomiędzy wydolnością układu oddechowego, w tym wartościami spirometrii FEV_1%, FVC%, FEF_{25-75} a stanem odżywienia wyrażonym wartościami percentyla masy ciała i wysokości u dzieci z mukowiscydozą. W badaniach Umłowskiej i wsp. wykazano podobny związek, między stanem odżywienia organizmu wyrażonym wartościami wskaźnika Cole'a, a wartościami FEV_1%. Zaobserwowano najwyższe wartości FEV_1% u badanych charakteryzujących się prawidłowym stanem odżywienia, nieco mniejsze u dzieci z lekkim niedożywieniem, a także z nadwagą, najniższe zaś u osób wykazujących skrajne niedożywienie. W badaniu tym zaobserwowano również silny związek między funkcją układu oddechowego, a statusem zakażenia *Pseudomonas aeruginosa*, czego nie stwierdzono w niniejszej pracy. Pacjenci z przewlekłym zakażeniem układu oddechowego charakteryzuja się gorszym stanem odżywienia, ocenianym na podstawie wartości centylowych masy ciała oraz wskaźników wagowo - wzrostowych [215]. Zależność tą potwierdzają wyniki pracy Marco i wsp., którzy zaobserwowali istotną zależność pomiędzy niedożywieniem a kolonizacją dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* i *Burkholderia cepacia*. Dodatkowo wykazali, że 61% spośród dzieci, u których wyhodowano z dróg oddechowych *Burkholderia cepacia*, było niedożywionych (< 3. percetyl), podczas gdy odsetek niedożywionych z kolonizacją dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* wynosił już tylko 21% [216]. Jednocześnie istnieją doniesienia o braku związku pomiędzy stanem odżywienia wyrażonym w percentylu masy ciała i wysokości w stosunku do kolonizacji *Pseudomonas aeruginosa* i innych patogenów dróg oddechowych młodzieży z CF (w tym *Staphylococcus aureus*) [217]. W pracy własnej wykazano również, że nie ma związku pomiędzy stanem odżywienia, a kolonizacją dróg oddechowych przez patogeny - *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia* oraz florą fizjologiczną.

Osłabienie potencjału wzrostowego dzieci chorych na mukowiscydozę wynika głównie z niedożywienia, nawracających infekcji układu oddechowego oraz typu mutacji genu CFTR [36] W badaniach nad relacją genotyp – fenotyp w mukowiscydozie uzyskiwane wyniki wskazują na wcześniejsze symptomy choroby, cięższy jej przebieg, gorsze parametry antropometryczne i oddechowe oraz większą śmiertelność osób z mutacją delF508/delF508, aniżeli z innymi typami mutacji [30]. Wyniki wcześniejszych obserwacji wykazały, że wśród dzieci chorych na

mukowiscydozę z poważnymi zaburzeniami wzrastania najwięcej było badanych o genotypie delF508/delF508 [210]. W pracy własnej nie obserwowano zależności pomiędzy stanem odżywienia, w tym wysokością pacjentów, a określoną mutacja genu CFTR. Podobne wyniki uzyskano w pracy z 2012 IMiD w Warszawie [205].

Oceny składu ciała, poprzez analizę masy mięśniowej, masy tłuszczowej i pośrednio masy beztłuszczowej można dokonać przy pomocy badania antropometrycznego, dokonując pomiaru obwodu ramienia w środkowej jego części i fałdu skórno - tłuszczowego nad tricepsem. Grubość fałdu skórno - tłuszczowego nad mięśniem trójgłowym jest wykładnikiem zasobów energetycznych [200]. W swojej pracy Boye i wsp. [218] wykazali, że wzór Slaughter'a i wsp.[189], który wykorzystuje 2 fałdy skórne, jest lepszą metodą oceny masy tłuszczowej u dzieci w wieku przedpokwitaniowym, niż wzór Jellifee i wsp. [219] wykorzystujący pomiar obwodu ramienia i fałdu skórnego nad mięśniem trójgłowym. Obserwacje te powierdzone zostały przez innych autorów [220], stwierdzono bowiem po porównaniu różnych wzorów wykorzystujących grubość fałdów skórnych z metodą densytometrii jako „złotego standardu" w ocenie składu ciała, że najlepszym równaniem opisującym odsetek FM u młodzieży jest wzór Slaughter'a [189]. Jednak Reilly i wsp. [221] nie zalecają pomiaru zawartości tłuszczu w organizmie u dzieci w okresie przedpokwitaniowym przy pomocy pomiarów fałdów skórnych, twierdząc, iż wyniki tych pomiarów nie korelują z wynikami uzyskanymi przy pomocy densytometrii. Eisenamm i wsp. [222] porównali użyteczność BMI, pomiarów fałdów skórnych, DXA i BIA w ocenie składu ciała. Doszli do wniosku, że u dzieci w wieku 3 - 8 lat metoda BIA ma ograniczoną wartość, natomiast BMI i pomiar grubości fałdów skórnych są metodami pomocnymi w ocenie składu ciała, jakkolwiek wielkość masy tłuszczowej jest niższa niż oceniana na podstawie DXA. Do podobnych wniosków doszli autorzy innej publikacji [223], zaobserwowali znaczne różnice pomiędzy pomiarami antropometrycznymi (BMI, fałdy skórno - tłuszczowe), a BIA przy ocenie składu ciała dzieci w wieku 5 - 7 lat. Porównanie wyników z różnych wzorów oceniających skład ciała skutkowało zarówno niedoszacowaniem jak i przeszacowaniem procentowej zawartości tłuszczu w organizmie u badanych dzieci. W badaniu [224] populacji 228 sześciolatków, wykazano iż pomiar zawartości tłuszczu w organizmie przy pomocy fałdów skórnych i BIA są metodami porównywalnymi, a metodą BIA jest bardziej dokładna przy ocenie zawartości tłuszczu w organizmie niż BMI. Również badania przeprowadzone w grupie dzieci z CF wskazują na mniejszą precyzję badania fałdów skórno – tłuszczowych w ocenie masy beztłuszczowej w porównaniu z oceną masy tłuszczowej. Chomtho i wsp. [225] porównując dwie metody oceny składu ciała (fałdy skórno - tłuszczowe, DXA) u dzieci z CF doszli do wniosku, że masa beztłuszczowa uzyskana badaniem antropometrycznym wykazuje słabą korelację z FFM uzyskaną badaniem DXA. Natomiast w przypadku oceny masy tłuszczowej, uzyskane wyniki dwiema metodami, wykazują bardzo silną korelację. W badaniu Beamesnil i wsp. porównując trzy metody oceny składu ciała (antropometria, BIA, DXA) u 55 pacjentów z CF wykazali związek pomiędzy uzyskanymi wynikami w ocenie składu ciała, jednak wyniki różniły się od siebie w wartościach

bezwzględnych. W ocenie masy tłuszczowej wyniki uzyskane metodą antropometrii i BIA różniły się od tych uzyskanych metodą DXA średnio o ok. 4 - 8%.

Do monitorowania składu ciała powinno się stosować jedną metodę pomiarową i techniki te nie powinny być stosowane zamiennie [226]. Do podobnych wniosków doszli już wcześniej King i wsp. z Australii, którzy w badaniu 76 dorosłych pacjentów z CF, porównywali badanie antropometrii, BIA i DXA. Wyniki ich pracy wskazywały na korelację pomiędzy wynikami uzyskanymi przy pomocy rożnych metod, ale uzyskane wartości znacznie się od siebie różniły. Uznali, że BIA ze względu na możliwość łatwego zafałszowania wyniku, wskutek samej specyfiki choroby, a także wskutek możliwości błędu w trakcie wykonywania badania lub nieprawidłowego przygotowania pacjenta nie powinna być metodą referencyjną w ocenie składu ciała u dzieci z CF [227]. Uważa się, że poziom sodu we krwi, może wpływać na pomiary rezystancji metodą BIA, a u chorych z CF obserwuje się często podwyższone stężenia jonów sodu [228]. Jednocześnie elektrolitowe zaburzenia występujące w skórze pacjentów z CF mogą wpływać na potencjał elektryczny całego organizmu [85]. W badaniu 12 dzieci z CF, wyniki badania antropometrycznego i BIA w ocenie FFM różniły się nawet o 19%. [229]. Jakkolwiek BIA jest dobrym narzędziem do oceny TBW u pacjentów z CF, ale według Azcue i wsp. [85] tylko u pacjentów populacji dziecięcej z łagodną postacią choroby oskrzelowo-płucnej oraz dobrze odżywionych wyniki TBW są wiarygodne.

Wobec takich rozbieżności odnotowywanych w literaturze, postanowiono w niniejszej pracy porównać użyteczność antropometrycznych i uzyskanych metodą bioimpedancji parametrów stanu odżywienia u dzieci z mukowiscydozą. Z otrzymanych wyników badań można wnioskować, że istnieją istotne różnice pomiędzy oceną składu ciała uzyskaną dwiema metodami a ich wyniki pokrywają się jedynie w 29% jeśli chodzi o odsetek FM oraz w 22% w przypadku odsetka FFM. Jedynie w przypadku oceny wielkości masy mięśniowej wyniki wykazywały silną korelację. Wydaje się zatem, że zgodnie z opinią innych autorów, BIA nie powinna być metodą zalecaną do oceny składu ciała u dzieci z CF.

Pamiętać należy również, że nieprawidłowe wyniki pomiarów mogą być spowodowane innymi przyczynami niezależnie od choroby, począwszy od złego umiejscowienia elektrod (przesunięcie o 1cm może spowodować zmianę rezystancji rzędu 2%), poprzez konieczność unieruchomienia dziecka w pozycji leżacej przez 5 - 10 minut przed badaniem - co w przypadku małych dzieci jest dla badającego dużym wyzwaniem (w pozycji leżącej impedancja wyraźnie wzrasta w ciągu 10 minut). BIA wymaga standaryzacji warunków przeprowadzania pomiaru, aby uzyskane wyniki były wiarygodne. Dlatego trzeba unikać wykonywania badania we wszelkich okolicznościach, które mają wpływ na zaburzenie równowagi płynów w organizmie, takie jak: intensywna aktywnośc fizyczna (konieczny jest odstęp co najmniej kilku godzin, a najlepiej dwunastogodzinny), zażywanie leków diuretycznych, obecność obrzęków (nie było obserwowane u naszych pacjentów) czy też menstruacja [191]. Dokładniejszą metodą, uznaną aktuanie za „złoty

standard" w ocenie składu ciała, również u dzieci z CF jest dwuwiązkowa absorpcjometria rentgenowska (DXA). Pozwala ocenić precyzyjnie skład ciała w sposób szybki, nieinwazyjny i jest oporna na zmiany w składzie pierwiastkowym i płynowym organizmu [230]. Densytometryczna ocena składu ciała jest polecana u dzieci przewlekle chorych, u których pomiary antropometryczne czy analiza bioimpedancji nie mogą być wykonane lub/i zaniżają masę tkanki tłuszczowej [231], [232]. Metoda ta jednak nie jest powszechnie stosowana do oceny składu ciała organizmu u dzieci ze względu na konieczność dysponowania odpowiednim sprzętem, doświadczeniem w przeprowadzeniu badania oraz stosunkowo wysokim kosztem badania.

Ukazało się wiele prac o charakterze przekrojowym oraz zaledwie kilka długofalowych prospektywnych oceniających skład ciała u dzieci z CF. Trudno jednak je porównać i wyciagnąć wspólne wnioski dla calej populacji dzieci z CF ponieważ w badaniach tych stosowano różne techniki oceny składu ciała, badania prowadzone były u dzieci w różnym wieku oraz wielkości grup były także różne.

W ostatnich latach badacze opierają swoje badania na technice DXA jako doskonałego narzędzia w ocenie składu ciała u dzieci z CF [199][233][234]. W badaniu Zielińskiej i wsp. [204] stwierdzono obniżenie masy tłuszczowej ramienia u dzieci z CF, aż 40% dzieci z CF nie osiągnęło 50% normy. Dzieci z CF miały również obniżoną beztłuszczową masę ramienia w stosunku do normy. W innym badaniu dzieci z CF obserwowano obniżenie FFM (DXA) łącznie u 42,1% pacjentów, średnia grubość fałdu skórno mięśniowego nad tricpesem również była obniżona u tych dzieci [199]. W badaniu Miller i wsp. obserwowali znaczne obniżenie FFM i FM oznacznych przy pomocy metody antropometrii oraz masy mięśniowej ocenianej za pomocą wydalanej z moczem kreatyniny w stosunku do grupy referencyjnej [235]. W pracy przedstawionej przez Sheikh i wsp. obserwowano obniżenie FFM (DXA) u dzieci z CF (208 pacjentów). Wykazano również związek wielkości FFM z funkcją płuc (FEV_1%) [233]. Natomiast Williams i wsp. w swoim badaniu stwierdzili niższe wartości FM u dzieci z CF.

W ninieszym badaniu zaobserwowano obniżenie średniego procentowego udziału masy tłuszczowej u dzieci z CF w stosunku do grupy referencyjnej, udział procentowy masy mięśniowej w grupie badanej i referencyjnej był podobny. Obserwacja roczna wykazała, że u dzieci z CF dochodzi do istotnego spadku procentowego udziału FFM oraz istotnego obniżenia średniej wartości wskaźnika Frisancho, który informuje o procentowym udziale masy mięśniowej w organizmie. Obniżenie masy mięśniowej jest niepokojącym zjawiskiem u dzieci z CF, ponieważ FFM jest gwarantem zdrowia dziecka i wyznacznikiem dobrego stanu klinicznego. Masa mięśniowa jest największym źródłem rezerw białkowych i źródłem energii w trakcie niedożywienia [236], [237]. Wielkość masy mięśniowej jest najsilniejszym wyznacznikiem podstawowego wydatku energetycznego zarówno w zdrowiu jak i w chorobie.

Już w 1982 roku Miller i wsp. zauważyli, że na wzrost procesów katabolicznych zachodzących w mięśniach wpływają przewlekłe infekcje oraz natężony wysiłek oddechowy [235].

Zjawisko postępującej utraty masy mięśniowej na skutek znacznie zwiększonego spoczynkowego wydatku energetycznego z jednej strony i niewystarczającej podaży odpowiednio bogatej w białko diety w przebiegu przewlekłej choroby obturacyjnej płuc jest stosunkowo dobrze poznane. Wskutek rozedmy płuc, dochodzi do zmniejszenia sprawności mięśni oddechowych, obserwuje się również zanik mięśni w przebiegu niedożywienia [238].

Przewlekły stan zapalny i niedożywienie w CF prowadzą do utraty białka i zaniku mięśni - - sarkopenii, która może być potęgowana przez zmniejszoną aktywność fizyczną, przewlekłe stosowanie terapii glikokortykosterydami, niedoborami witaminy D_3, co potwierdzają badania u dorosłych z CF [239], [240], [241], [242].

Wiele prac poświęconych jest zależności pomiędzy FFM a obniżoną siłą mięśni oddechowych u chorych z CF, co łącznie może wpływać na osłabienie funkcji płuc i pogorszenie wyników spirometrii oraz osłabienia odruchu kaszlowego [243]–[246]. Z drugiej strony, przewlekła choroba zapalna płuc i liczne infekcje doprowadzają do stanu katabolizmu, a w konsekwencji obniżenia beztłuszczowej masy ciała, co w rezultacie prowadzi do pogorszenia choroby oskrzelowo - płucnej [247]. Korelacja między FEV_1 i FFM, którą obserwowali w swojej pracy Steinkamp i wsp., sugeruje również związek pomiędzy wielkością masy mięśniowej a funkcją płuc [113]. Również Williams i wsp. w swoim badaniu obserwowali korelację FM z wartością FEV_1% u dzieci z CF [234].

W pracy własnej nie wykazano obecności takiej korelacji pomiędzy procentowymi wartościami FFM uzyskanej badaniem antropometrii i bioimpedancji, a wydolności oddechową (FEV_1, FVC, FEF_{25-75}) u dzieci z CF.

Leczeniem z wyboru, który mógłoby modyfikować procesy metaboliczne białek mięśni i wpływać na zwiększenie beztłuszczowej masy mięśniowej, jest leczenie żywieniowe, oparte na odpowiednio zbilansowanej diecie , bogatej w białko, sterydy anaboliczne oraz fizykoterapia [248]. Aerobowe ćwiczenia fizyczne u chorych dzieci z CF wpływają na ich długość życia [249], nawykowa aktywność fizyczna wzmacnia siłę mięśniową [250], [251] wpływa też na jakoś życia [252] i ułatwia oczyszczenie dróg oddechowych z zalegającego śluzu. Niezmiernie istotna jest regularna ocena beztłuszczowej masy ciała, która w razie spadku FFM% pozwoli na jak najszybszą interwencje terapeutyczną.

Zewnątrzwydzielnicza niewydolność trzustki skutkuje zaburzeniami trawienia i wchłaniania tłuszczów a wraz z nimi witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, w konsekwencji wydalaniem tluszczów ze stolcem. Terapia substytucyjna enzymów trzustkowych często nie zapewnia optymalnego trawienia i wchłaniania lipidów a w konsekwencji również witamin rozpuszczalnych w tłuszczach [253]. Mimo suplementacji enzymów trzustkowych i uzupełnianiu witamin (A, D, E, K) zgodnie z zaleceniami, istnieje potrzeba indywidualnego dopasowania dawki suplementacyjnej w zależności od osobniczych potrzeb u konkretnego pacjenta z CF [254].

Niedobór witamin A i E może prowadzić do upośledzonej ochrony układu oddechowego, jak również wpływa na nasilenie stresu oksydacyjnego u chorych z mukowiscydozą [255]. Uważa się, że stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w patofizjologii mukowiscydozy [256], [257].

U pacjentów z mukowiscydozą obserwuje się zaburzenia równowagi pomiędzy wytwarzaniem wolnych rodników tlenowych a ich inaktywacją przez systemy przeciwutleniające. W wyniku częstych infekcji układu oddechowego dochodzi do narastania stresu oksydacyjnego związanego głównie z wytwarzaniem wolnych rodników przez aktywowane neutrofile. Dodatkowo zaburzenia we wchłanianiu jelitowym wynikające z zewnątrzwydzielniczej niewydolności trzustki prowadzą do znaczących niedoborów witamin antyoksydacyjnych, takich jak witamina A i E. Dlatego też stosowana u tych chorych dieta powinna dostarczać odpowiednie ilości substancji o działaniu antyutleniającym do neutralizacji stresu oksydacyjnego [258].

Udowodniono, że niskie stężenie witaminy A wiąże się z gorszym stanem klinicznym oraz pogorszeniem funkcji płuc [128]. Niezależnie od wieku czy stanu odżywienia, niskie stężenie tej witaminy w surowicy krwi jest często obserwowane u pacjentów z CF, którzy nie stosują suplementacji lub suplementacja jest niewystarczająca. Występowanie biochemicznych niedoborów witaminy A, może obrazować zaburzenia uwalniania jej zapasów z wątroby [259]. Suplementacja witaminą A u chorych z CF jest ujęta w standardach terapeutycznych chorych z CF [176], [260]. Aktualnie w kręgu zainteresowań naukowców jest nie tylko obniżony poziom witaminy A w surowicy, który nadal się zdarza w obrazie CF [261], ale również jej nadmiar, który może być toksyczny [262].

Według niektórych publikacji, stężenie witaminy A nie koreluje z wielkością dawki suplementacyjnej, wiekiem, płcią ani z funkcją płuc ocenioną w spirometrii przez FEV_1. Stężenie witaminy A w surowicy było natomiast odwrotnie proporcjonalne do masy ciała i wysokości badanych pacjentów z CF [259] [263]. W obu cytowanych badaniach stężenie retinolu w surowicy było znacznie powyżej normy, co mogło wywołać toksyczne efekty u chorych z CF. Różnice w stężeniu witaminy A w surowicy w trakcie zaostrzenia choroby oskrzelowo - płucnej jak i zdrowienia mogły być związane z obniżeniem stężenia witaminy A w odpowiedzi na ostrą fazę związaną z zaostrzeniem infekcji i/lub zużyciem retinolu w trakcie zakażenia. Ostatnio opublikowane retrospektywne badanie, w którym analizowano związek retinolu z zaostrzeniem choroby oskrzelowo – płucnej u chorych z CF, było prowadzone u 102 chorych w wieku 1- 27 roku życia. Chorych podzielono na dwie grupy w zależności od funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki. Stężenie retinolu oznaczano w momencie rutynowej wizyty kontrolnej i w czasie zaostrzenia choroby oskrzelowo – płucnej oraz w okresie 1 miesiąca od zakończonego leczenia włączonego w trakcie zaostrzenia. Wykazano negatywną korelację pomiędzy zaostrzeniem choroby oskrzelowo-płucnej, a stężeniem retinolu w surowicy chorych z CF. Badania wykazały, że pacjenci z wartościami FEV_1 większymi niż 80% , mają wyższe stężenia retinolu w surowicy [264]. W badaniu Wood i wsp. również potwierdza się pozytywny związek pomiędzy stężeniem witaminy

A w surowicy chorych z CF a wydolnością układu oddechowego wyrażoną w %FVC [257].

W badaniu własnym średnie stężenie witaminy A w surowicy u dzieci z CF było porównywalne do stężenia tej witaminy w surowicy dzieci z grupy referencyjnej i mieścio się w zakresie wartości prawidłowych w badaniach wyjściowych jak i wykonanych po 12 miesiącach. Otrzymane wyniki wskazują, że stosowana dieta i suplementacja prowadzona u naszych pacjentów normalizuje stężenia witaminy A w surowicy krwi. W odniesieniu do nielicznych publikacji oceniających w sposób sprzeczny zależność stężenia witaminy A u chorych z CF, a funkcją ich płuc, zadecydowano o przeanalizowaniu tego związku. Nie obserwowano zależności pomiędzy średnim stężeniem witaminy A w surowicy, a wydolnością układu oddechowego i kolonizacja dróg oddechowych zarówno przez patogeny jak i florę fizjologiczną.

Niedobór witaminy E często jest obserwowany u chorych z CF, natomiast klniczne objawy jej niedoboru znacznie rzadziej. Niemniej jednak długo utrzymujące sie niedobory mogą prowadzić do nieodwracalnych uszkodzeń neurologicznych [128]. Witamina E (α-tokoferol), jest silnym antyutleniaczem, chroni lipoproteiny i błony komórkowe przed zniszczeniem, co może mieć szczególne znaczenie dla pacjentów, u których stres oksydacyjny jest nasilony w wyniku przewlekłych stanów zapalnych dróg oddechowych [265], [266]. Niemal u wszystkich niemowląt diagnozowanych w noworodkowych badaniach przesiewowych stwierdza się niskie stężenie witaminy Ew surowicy niezależnie od funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki. Obserwacje te oraz fakt, że włączenie terapii enzymami trzustkowymi nie niweluje biochemicznych niedoborów witaminy E sugerują, że zaburzenia funkcji trzustki nie są jedyną przyczyną niedoborów tej witaminy. Prawdopodobnie porównywalną, a może nawet bardziej znaczącą rolę w hipowitaminozie E odgrywa ograniczona biodostępność kwasów żółciowych w jelitach [267],[268]. W wielu publikacjach stężenie witaminy E u chorych z CF nie różni się w porównu do wartości obserwowanych u osób zdrowych. W badaniu 102 chorych z CF prowadzonym w Izraelu, porównano stężenie witaminy A i E w surowicy krwi chorych z CF w fazie zaostrzenia i remisji choroby oskrzelowo - płucnej. Zaobserwowano pozytywną korelację zarówno stężenia witaminy A i E z liczbą zaostrzeń choroby płucnej oraz że obniżone stężenie witamin A i E w surowicy współwystępuje w trakcie zaostrzeń choroby oskrzelowo – płucnej. Jednakże nie zaobserwowano istotnej różnicy pomiędzy FEV_1, a stężeniem witaminy E w surowicy krwi chorych z CF [264] . Badania dotyczące znaczenia tokoferolu w mukowiscydozie są nieliczne i dotyczą głównie osób dorosłych.

Ustosunkowując się do ubogiego w tym zakresie piśmiennictwa, oceniono średnie stężenie witaminy E w surowicy krwi dzieci z CF stwierdzając istotne obniżenie średniego stężenia witaminy E w surowicy chorych z CF, poziom ten po roku obserwacji istotnie się podwyższył, lecz nadal pozostawał poniżej wartości referencyjnych. Badania potwierdzają, że dobrze skomponowane leczenie żywieniowe i suplementacja witaminą E zgodnie z zaleceniami dla dzieci z CF normalizuje poziomy witamin E [258]. W pracy własnej wykazano również różnicę

w zakresie średniego stężenia witaminy E w surowicy dzieci z CF z kolonizacją dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* i bez niej. U dzieci z CF u których występowała kolonizacja dróg oddechowych przez ten patogen, stężenie witaminy E było niższe. Być może zależność ta jest związana z funkcją witaminy E jako przeciwutleniacza, jako że inaktywuje wolne rodniki oraz stabilizuje błony komórkowe. Ponadto osłabia syntezę prostaglandyny E2, przez co pośrednio pobudza odpowiedź immunologiczną typu komórkowego zależną od limfocytów Th [269], [270]. Na tym etapie nie można jednak w sposób jednoznaczny określić, czy zachodzi związek przyczynowy między obecnością *Pseudomonas aeruginosa* a stężeniem witaminy E, wyjaśnienie tego związku wymaga dalszych badań.

W zależności od źródeł szacuje się, że 10 do 80% pacjentów z CF cierpi na niedobory witaminy D3 [271]. U ¼ niemowląt zdiagnozowanych w badaniach przesiewowych wykazano obniżone stężenie kalcydiolu w surowicy krwi, w trzech pierwszych miesiącach życia, zanim wdrożono jakiekolwiek leczenie [267]., co może wiązać się z niskim stężeniem we krwi białka wiążącego witaminę D u pacjentów z CF i w związku z tym utrudnionym transportem tego składnika [128]. Niedobory witaminy D mogą skutkować zaburzeniami w rozwoju i dojrzewaniu układu kostnego. Witamina D może mieć również istotne znaczenie dla funkcji mięśni w tym mięśni oddechowych [272]. Liczne doniesienia wskazują na jej działanie immunomodulacyjne, hamowanie proliferacji nieprawidłowych komórek i nowotworowej angiogenezy, przy jednoczesnym pobudzaniu danej tkanki czy organu do prawidłowego różnicowania się komórek[273], [274]. Ponadto wiadomo również, że zmniejsza ryzyko wielu przewlekłych chorób w tym m.in: cukrzycy typu 1, zapalenia stawów, chorób serca oraz chorób infekcyjnych [275]. Pomimo rutynowej suplementacji witaminy D u chorych z CF, czesto obserwuje się niskie poziomy tej witaminy we krwi [276], [277].

U dorosłych z CF niedobór witaminy $25(OH)D_3$ (< 15 ng/ml) rozpoznano u 39% chorych z CF [277] Sposród wszystkich badanych 81% realizowało zalecenia żywieniowe w zakresie spożycia witaminy D, a 5% przekroczyło zalecaną dawkę suplementacyjną. Spożycie witaminy D nie korelowało ze stężeniem witaminy $25(OH)D_3$ w surowicy krwi. W badaniach Rovner i wsp. [276] średnie stężenie witaminy D w surowicy dzieci z CF wynosiło 20.7 ± 6.5SD ng/ml, a niedobór stwierdzono w 90% przypadków. W grupie dzieci zdrowych odsetek ten wynosił 74% (N ≥ 30 ng/ml). W badaniu 39 dzieci w wieku 7 - 18 lat z ośrodka we Włoszech średnie stężenie witaminy $25(OH)D_3$ wynosiło 34.8 ng/ml i zawierało się w zakresie norm referencyjnych dla wieku [278].

W badaniu własnym średnie stężenie witaminy $25(OH)D_3$ w surowicy krwi dzieci z CF wynosiło średnio 13,0 ± 3,0 SD ng/ml i było istotnie niższe niż u zdrowych rówieśników. Po roku obserwacji u dzieci z CF stężenie witaminy $25(OH)D_3$ było wyższe niż w trakcie badania wstępnego i wynosiło 17,4 ± 4,5 SD ng/ml, ale nadal utrzymywało się poniżej wartości referencyjnych. Na stężenie witaminy D w surowicy ma wpływ wiele czynników. Zmniejszenie

syntezy witaminy D nawet o ponad 90% może być spowodowane zwiększeniem zawartości melatoniny w skórze [279] jak i stosowaniem kremów z filtrami ochronnymi przed promieniowaniem UVB [280]. Promieniowanie UVB powoduje wzrost syntezy prewitaminy D_3, która pod wpływem ciepła przekształca się w witaminę D_3 [281]. Najwięszy wpływ na stężenie witaminy D w surowicy, poza suplementacją, ma ekspozycja na promieniowanie słoneczne. Dzieci zakwalifikowane do projektu były rasy białej, badania były wykonane w okresie jesienno-zimowym, tak aby zniwelować błąd w ocenie stężenia witaminy D_3 spowodowany nierówną ekspozycją na promieniowanie słoneczne. Mimo jasnych zaleceń w zakresie dawki suplementacyjnej u dzieci z CF, nadal utrzymuje się jej deficyt we krwi. Suplementację indywidualną powinno się stosować pod konrolą stężenia we krwi.

Poza funkcją w gospodarce mineralnej kości, stężenie witaminy D może odgrywać istotną rolę związaną z układem oddechowych. Black i wsp. w swoim badaniu obserwowali istotną zależność pomiędzy średnim stężeniem witaminy D w surowicy chorych dorosłych z chorobami płuc, a FEV_1 i FVC [139]. Wiedza na temat roli witaminy D w funkcji ukadu oddechowego jest bardzo skąpa.W badaniu dzieci z CF [276] z łagodną i umiarkowaną chorobą płuc nie wykazano związku między stężeniem witaminy D w surowicy, a FEV_1. Natomiast w badaniu dorosłych chorych z CF [282], taki związek między średnim stężeniem witaminy $25(OH)D_3$, a FEV_1 został potwierdzony. Przez okres 2 lat Wolfenden i wsp. mierzyli FEV_1, a następnie porównywali ten parametr ze stężeniem witaminy D w surowicy. Okazało się, że FEV_1 wykazywały korelację ze stężeniem witaminy $25(OH)D_3$ w surowicy [282]. Dalsze wyjaśnienie mechanizmów oraz powiązań z układem immunologicznym wymaga pogłębionych badań. [283]. Zespół Yim i wsp. stwierdzili, że podaż in vitro witaminy D stymuluje produkcję hCAP-18 w komórkach nabłonka oskrzeli, dzięki czemu zwiększa się aktywność antybakteryjna komórek nabłonkowych, zwłaszcza przeciwko takim drobnoustrojom jak *Pseudomonas aeruginosa* czy *Burholderia cepacia*. Stanowi to podstawę do podjęcia prób wdrożenia leczenia aktywnym metabolitem witaminy D pacjentów z mukowiscydozą, pozwalając na zwiększenie stężenia katelicydyny na nabłonku oskrzeli, jednakże badania te pozostają jeszcze w fazie eksperymentalnej [141].

Wychodząc naprzeciw tym doniesieniom, postanowiono w pracy własnej, ocenić związek średniego stężenia witaminy $25(OH)D_3$ z wydolnością oddechową i kolonizacją dróg oddechowych przez florę fizjologiczną i najczęstsze patogeny dróg oddechowych dzieci z CF. Nie zaobserwowano związku pomiędzy średnim stężeniem witaminy $25(OH)D_3$ w surowicy, a kolonizacją dróg oddechowych przez *Staphylococcus aureus, Burkholderia cepacia* i florę fizjologiczną. Zaobserwowano natomiast tendencję do występowania niższych stężeń witaminy $25(OH)D_3$ u chorych z kolonizacją *Pseudomonas aeruginosa*, jednak obserwowane różnice nie osiągnęły poziomu istotności, co wynikać mogło z ograniczonej liczebności grupy badanej (kolonizacja *Pseudomonas aeruginosa* n= 16 pacjentów). Wobec obiecujących doniesień na temat nowej roli witaminy D badania te z pewnością warto byłoby kontynuować badania.

Pacjenci z CF stanowią wysoką grupę ryzyka występowania niedoboru witaminy K. Istotnym zagadnieniem z punktu widzenia klinicznego jest dobór odpowiedniej dawki suplementacyjnej, która pozwoliłaby na zachowanie jej prawidłowych ustrojowych zasobów u chorych z mukowiscydozą [284]. Okazuje się bowiem, że zastosowana suplementacja poprawia parametry związane z niedoborem witaminy K lecz nie doprowadza do ich całkowitej normalizacji [285]. Z drugiej strony zdarza się, że pomimo podaży witaminy K odsetek pacjentów z CF u których nadal obserwuje się niedobór jest wysoki [286]. W aspekcie leczenia osteopenii i osteoporozy u chorych na CF, pomimo wzrostu stężenia witaminy K, nie zwiększa się gęstość mineralna kości [287]. Jako jedną z przyczyn niedoboru witaminy K u chorych z CF podaje się zmniejszoną jej produkcję przez bakterie jelitowe na skutek długotrwałej antybiotykoterapii [147].

Wychodząc naprzeciw powyższym zagadnieniom, celem pracy była ocena częstości występowania niedoboru witaminy K1 w surowicy dzieci z CF w różnych okresach trwania choroby oraz analiza jej związku z wydolnością oddechową u pacjentów z CF. Zdecydowano się na ocenę osoczowego stężenia witaminy K [288], przy pomocy chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas LC - MS. Jednakże na podstawie powyższych parametrów nie można wnioskować o poziomach witaminy K w tkankach, których miernikem jest wielokość γ-karboksylacji białek Gla.Pomiar poziomu PIVKA- II z kolei umożliwia oszacowanie wątrobowych zasobów witaminy K [289].

W badaniach własnych średnie stężenie witaminy K1 było istotnie niższe niż w grupie referencyjnej. Jednocześnie obserwowano duże rożnice stężeń w obrębie grupy dzieci z CF. Nie wykazano istotnej różnicy w średnim stężeniu witaminy K1 po roku obserwacji u dzieci z CF. Zarówno w momencie badania wstępnego jak i po roku obserwacji u kilkorga dzieci z grupy z CF i grupy kontrolnej, stężenie witaminy K1 było nieoznaczalne, co prawdopodobnie wynika ze znacznych niedoborów tej witaminy w surowicy, spowodowanych stosowaniem zbyt niskich dawek suplementacyjnych witaminy K. Należy jednak pamiętać, że niskie stężenie w surowicy nie wyklucza obecności zasobów tkankowych witaminy K, ponieważ wątroba posiada bardzo efektywny mechanizm wyłapywania witaminy K z osocza krwi i utrzymywania jej prawidłowych zasobów w tkankach, pomimo niskiego stężenia we krwi. Aktywność witaminy K w procesie osteogenezy ujawnia się dopiero przy jesj wysokim stężeniu we krwi, zatem kości sa bardziej wrażliwe na jej niedobór. Niedobór witaminy K w kościach może istnieć przy prawidłowych jej zasobach w wątrobie [149]. Występowanie niedoborów ustrojowych witaminy K jest szeroko opisywane w grupach pacjentów z CF, do ich oceny wykorzystano parametr PIVKA- II, odsetek Glu-OC oraz stężenie witaminy K we krwi oznaczone metodami wysokosprawnej chromatografii cieczowej, immunoenzymatyczną oraz radioimmunologiczną [149], [286], [290], [291], [149], [291], [292].

Choć w rutynowej diagnostyce do oceny niedoboru witaminy K wykorzystuje się oznaczenie czasu protrombinowego (PT) [293] z danych literaturowych wynika, że wystarcza tylko

50% prawidłowego stężenia protrombiny aby czas protrombinowy mieścił się w granicach wartości referencyjnych [156].

W badaniu własnym nie wykazano aby wydolność układu oddechowego, kolonizacja zarówno florą patogenną: *Pseudomonas aeruginosa, Staphyloccocus aureus, Burkholderia cepacia* jak i fizjologiczną miały wpływ na częstość występowania niedoborów witaminy K. Brak jest niestety danych literaturowych analizujących występowanie niedoboru witaminy K u pacjentów z CF skolonizowanych florą patogenną w tym *Pseudomonas aeruginos* oraz florą fizjologiczną.

Badania nad rolą witaminy C w profilaktyce i leczeniu chorób infekcyjnych są intensywnie prowadzone od początku lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku. Jest ona niezbędna do produkcji kolagenu, przez co przyspiesza gojenie się ran oraz zrastanie kości. Uczestniczy w metabolizmie tłuszczów, cholesterolu, zwiększa wchłanianie żelaza, bierze również udział w syntezie hormonów kory nadnerczy [269]. Jednak najistotniejszy w jej działaniu wydaje się być wpływ na układ odpornościowy. Będąc jednym z głównych antyoksydantów, witamina C unieczynnia wolne rodniki powstałe podczas reakcji zapalnej, dzięki czemu chroni tkanki przed uszkodzeniem [269][270]. Ponadto wykazano, że zwiększa ona liczbę limfocytów T oraz stymuluje migrację makrofagów podczas infekcji [269]. Niedobory witaminy C wystepują rzadko, stężenie witaminy C w surowicy odwrotnie proporcjonalnie koreluje z wiekiem i różnymi wskaźnikami stanu zapalnego [157]. W piśmiennictwie dostępnych jest niewiele prac dotyczących witaminy C u chorych z CF, w dostępnych źródłach nie znalezion żadnych doniesień dotyczących wydalania witaminy C w moczu. W opublikowanej w 2004 roku pracy wiązano nadzieję, z nowo odkrytą funkcją witaminy C u chorych z mukowiscydozą. Fischer i wsp. w badaniach in vitro stwierdzili, że witamina C jest biologicznym regulatorem kanału CFTR w wydzielaniu chlorków w śródbłonku dróg oddechowych [294]. Ze względu na to, że wpływa na regulację wydzielania wody i chloru w drogach oddechowych, obserwowany jest tylko przy bardzo wysokim stężeniu, nieosiągalnych w surowicy (nadmiar witaminy C z organizmu jest usuwany z moczem) sugerowali wykorzystanie podaży witaminy C miejscowo do dróg oddechowych. Mimo obiecujących wyników, tematyka ta nie została podjęta i potwierdzona przez inne zespoły badawcze, a miejscowa suplementacja witaminy C nie jest zalecana w leczeniu CF.

Stężenie witaminy C w moczu odzwierciedla podaż witaminy C w pożywieniu [159]. Po wykluczeniu witaminy C z diety, stężenie tej witaminy we krwi znacznie się obniża. Ocena stężenia witaminy C w moczu jest niezwykle ważna dla diagnostyki jej niedoborów, może być pierwszym znakiem jej niedoboru, ponieważ stężenie jej w moczu obniża się znacznie szybciej niż we krwi. Pomiar stężenia witaminy C w leukocytach jest wskaźnikiem awitaminozy, nie zaś jej hipowitaminozy, którą możemy ocenić badając stężenie witaminy C w moczu. Przyczynami zwiększenia stężenia witaminy C w moczu mogą być przewlekły stres i przewlekłe infekcje, które zwiększają jej wydzielanie z moczem [160].

W niniejszej pracy nie stwierdzono różnic w średnim stężeniu witaminy C w moczu w grupie dzieci z CF i grupie referencyjnej, nie wykazano również zależności pomiędzy średnim stężeniem witaminy C w moczu a wydolnością układu oddechowego oraz kolonizacją dróg oddechowych przez patogeny i florę fizjologiczną dróg oddechowych u dzieci z CF. Ze względu na brak różnic w stężeniu witaminy C w moczu w obu grupach i brak w piśmiennictwie dowodów na częste występowanie niedoborów tej witaminy populacji dzieci z CF zdecydowano o dostapieniu z powtórnego badania tej witaminy C w moczu po roku obserwacji.

Kwasy tłuszczowe, oprócz funkcji budulcowej komórek, pełnią także szereg biologicznych funkcji. Działają jako przekaźniki sygnałów między komórkami, stanowią materiał energetyczny dla wielu tkanek, biorą znaczący udział w powstawaniu i wygaszaniu stanu zapalnego, a także regulują metabolizm oraz wzrost i różnicowanie komórek. Najnowsze wyniki badań dotyczące przebiegu stanu zapalnego wskazują, iż kwas arachidonowy (C20:4 n-6) jest też prekursorem związków - lipoksyn, cząsteczek wytwarzanych w końcowych fazach zapalenia, posiadających właściwości „prowygaszeniowe" stan zapalny [295]. Do grupy związków o właściwościach przeciwzapalnych należą także produkty metabolizmu innych wielonienasyconcyh kwasów tłuszczowych, w tym pochodne n-3 WNDKT – rezolwiny, które stanowią rodzinę związków pochodnych kwasu eikozapentaenowego (20:5 n-3) (rezolwiny serii E) i kwasu dokozaheksaenowego (22:6 n-3) (rezolwiny serii D). Profil ich biologicznej aktywności jest zbliżony. Działanie przeciwzapalne opiera się na aktywacji procesu wygaszania ostrej reakcji zapalnej poprzez wpływ na neutrofile oraz makrofagi [296]. Do pochodnych kwasu DHA należą także związki zwane protektynami i neuroprotektynami (syntetyzowane w OUN), ich nazwa pochodzi od funkcji ochronnych, które pełnią. Przeciwdziałają apoptozie komórek, która jest wywołana stresem oksydacyjnym, a także indukcji cyklooksygenazy- 2, stymulowanej obecnością prozapalnych cytokin. Ponadto, przyczyniają się do wygaszania stanu zapalnego między innymi poprzez hamowanie ekspresji genów kodujących związki prozapalne takie jak IL-1, czy cyklooksygenaza- 2 [297], [298]. Z kwasu DHA powstają marezyny - „prowygaszeniowe" pochodne kwasów tłuszczowych. Ich aktywność biologiczna opiera się na wielokierunkowym mechanizmie działania, prowadzącym do ograniczenia gromadzenia się wielojądrzastych leukocytów w miejscu zapalenia [295], [299].

Wskutek zewnątrzwydzielniczej niewydolności trzustki u chorych z CF często dochodzi do niedoborów niezbędnych, nienasyconych kwasów tłuszczowych [300], [301]. Ilość oraz rodzaj WNDKT uwalnianych w odpowiedzi na stymulatory stanu zapalnego, zależą od zawartości kwasów tłuszczowych związanych z fosfolipidami błony komórkowej, stąd obecność niezbędnych kwasów tłuszczowych w diecie mogłaby być potencjalnie jednym z czynników determinujących stopień nasilenia zapalenia. Co więcej, bezpośrednie spożycie różnych WNDKT zmienia kompozycję błonowych kwasów tłuszczowych, która w rezultacie moduluje komórkową i tkankową odpowiedź na infekcję, uszkodzenie i stany zapalne. Zwiększone spożycie kwasu

gamma linolenowego, dihomo-γ-linolenowego, EPA i DHA istotnie obniża nasilenie reakcji zapalnej [302]–[304]. Prawdopodobny mechanizm mogący prowadzić do wyczerpania zapasów wielonienasyconych niezbędnych kwasów tłuszczowych (WNDKT) we krwi chorych z CF obejmuje zaburzenia trawienia i wchłaniania tluszczów dostarczanych z dietą, jak również niedobór masy ciała i ujemny bilans energetyczny przy jednoczesnym zwiększaniu β - oksydacji tych składników. Wydaje się, że nadmierna peroksydacja WNDKT, obniżony potencjał antyoksydacyjny oraz stres oksydacyjny wywołany przez przewlekły stan zapalny i infekcje, mogą doprowadzić do obniżonej zawartości tych kwasów tłuszczowych we krwi [128]. Niemniej jednak, określenie rzeczywistych przyczyn niedoborów WNDKT u chorych z CF wymaga wyjaśnienia w badaniach klinicznych.

Zaburzenia w profilu kwasów tłuszczowych w mukowiscydozie są tematem szeroko opisanym w literaturze [163], [165], [172], [268], [300], [305]–[309]. Od czasu pojawienia się ponad 50 lat temu pracy Kuo i wsp. [310], którzy jako pierwsi opisali zmiany w profilu kwasów tłuszczowych u chorych z CF, pojawiło się około 18 innych publikacji na ten temat [309], [311], [163], [268], [305]–[307], [312]. Najlepiej udokumentowanym zaburzeniem w profilu kwasów tłuszczowych jest niedobór kwasu linolowego u chorych z CF. Obserwuje się również podwyższony poziom kwasu dihomo-γ-linolenowego (20:3 n-6), kwasu palmitooleinowego (C 16:1, n-7) oraz kwasu miodowego (C 20:3, n-9), a także obniżony poziom kwasu DHA [163], [268], [305]–[307], [312].

W niniejszej podjęto próbę oceny jakościowej profilu kwasów tłuszczowych związanych z fosfolipidami błony erytrocytów u chorych dzieci na mukowiscydozę. Nie obserwowano różnicy w średnim odsetku kwasów nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych w obu grupach. Nie wykazano również różnicy w średniej procentowej zawartości kwasów n–6 i n-3 w obu grupach. Stwierdzono jednak istotne statystycznie różnice pomiędzy procentowym udziałem niektórych kwasów tłuszczowych w błonach erytrocytów u dzieci chorych na mukowiscydozę a ich obecnością w grupie referencyjnej.

Mimo różnorodności i rozbieżności w wynikach różnych autorów, w przypadku dwóch kwasów tłuszczowych – kwas linolowy (obniżony udział) i kwas dihomo-γ-linolenowy (podwyższony udział) obserwacje są podobne do pracy własnej. Obserwowany w CF spadek dostępności WNDKT, a w szczególności kwasu arachidonowego oraz DHA indukuje ważne zmiany w wysoce regulowanej i specyficznej kompozycji kwasów tłuszczowych w błonach komórkowych, a tym samym szkodzi ich poprawnemu funkcjonowaniu. Ponadto DHA jest prekursorem wspomnianych już silnie działających mediatorów przeciwzapalnych, co może nieść za sobą ważne implikacje terapeutyczne. Wykazano, iż doustne podanie wysokich dawek DHA myszom z CF poprawia zaburzenia w profilu kwasów tłuszczowych, odwraca zmiany histologiczne w trzustce i jelicie krętym oraz istotnie obniża poziom neutrocytów u myszy z zapaleniem płuc wywołanym przez bakterie ze szczepu *Pseudomonas* [309].

W niniejszym badaniu nie odnotowano różnic istotnych statystycznie w porównaniu do grupy referencyjnej dla kwasu arachidonowego (C20:4 n-6), co stwierdzono w niektórych publikacjach [268], [307], [312]. Nie obserwowano w badaniu własnym różnic w procentowej zawartości kwasów EPA i DHA. W publikacjach na temat profilu kwasów tłuszczowych w CF opisuje się zarówno podwyższoną zawartość kwasów EPA i DHA we krwi chorych [268], [312], jak również ich niedobór [165], [313]. Rozbieżność w cytowanych wynikach może wiązać się z różnym doborem grupy badanej oraz jej wielkością, a także stosowaniem lub nie przez chorych suplementacji tych kwasów.

Mimo częstego występowania niedoborów tych kwasów w CF, nie odnotowuje się wyraźnych objawów tego niedoboru. Z reguły niedobór niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych skutkuje obniżoną produkcją eikozanoidów w organizmie. Natomiast u pacjentów z CF obserwuje się wzmożoną produkcję eikozanoidów z równoległym rozwojem niedoboru WNDKT. Obserwacja ta może być uzasadniona przez fakt, iż przebieg mukowiscydozy charakteryzuje się wzmożoną przemianą kwasu arachidonowego do eikozanoidów biorących udział w rozwoju i podtrzymaniu stanu zapalnego. Jakkolwiek, precyzyjny mechanizm odpowiadający za obniżonie zawartości kwasu linolowego u dzieci chorych na mukowiscydozę pozostaje nieznany. Jedną z prawdopodobnych przyczyn niedoboru WNDKT przedstawiają autorzy w swych pracach [313], [314]. Zgodnie z ich poglądem ww. niedobór jest konsekwencją wzmożonej przemiany kwasu arachidonowego (C20:4 n-6) z kwasu linolowego w tkankach oraz wydzielinie z dróg oddechowych pacjentów z CF [310], [311], [313] wskutek przewlekle toczącego się procesu zapalnego w układzie oddechowym i przewodzie pokarmowym.

Wobec zmian profilu kwasów tłuszczowych we krwi chorych z CF, ciekawe jest pytanie o wskazania do suplementacji WNDKT [165], [172], [315][27-29]. Wyniki badań in vitro sugerują, że podawanie wysokich dawek olejów rybich, bogatych w n-3 kwasy tłuszczowe może redukować uwalnianie leukotrienów prozapalnych z granulocytów, poprawiając funkcję układu oddechowego u chorych z CF, obserwacje te wymagają potwierdzenia w badaniach klinicznych [128], [300], [301]. Według zaleceń żywieniowych Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy, chorym z CF zaleca się spożywanie kwasów wielonienasyconych n–3 w ilościach jak osobom zdrowym. Steinkamp i in. wykazali, iż podaż suplementu diety bogatego w tłuszcz oraz kwas linolowy (dostarczającego 628 ± 254 kcal dziennie) poprawiła stan odżywienia pacjentów o niskiej masie ciała i obniżonej zawartości niezbędnych kwasów tłuszczowych w organizmie [168]. Z kolei Van Egmond i wsp. stwierdzili, że podawanie niemowlętom chorym na mukowiscydozę kwasu linolowego korzystnie wpływa na ich rozwój i optymalizuje stan odżywienia [316].

W literaturze opisane są również próby zastosowania kwasu EPA oraz DHA w suplementacji u chorych na mukowiscydozę w celu normalizacji obserwowanych zaburzeń w profilu kwasów tłuszczowych [301], [317]–[319]. W wyniku długoterminowej (1 rok) terapii niskimi dawkami kwasów tłuszczowych n-3 oraz n-6 (324 mg EPA, 216 mg DHA, 480 mg kwas

linolowy oraz 258 mg kwas γ-linolenowy dziennie) ograniczono proces zapalny, osiągnięto wzrost zawartości kwasu linolowego i DHA oraz zmniejszenie udziału kwasu arachidonowego w surowicy krwi, poprawie uległa także wydolność układu oddechowego [301]. W celu potwierdzenia skuteczności takiej suplementacji konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań.

W piśmiennictwie analizuje się również związek pomiędzy stężeniem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych a wydolnością układu oddechowego i częstość zaostrzeń choroby oskrzelowo – płucnej u chorych z CF. W badaniu Wood i wsp. u chorych dorosłych z CF, obserwuje się dodatnią korelację pomiędzy stężeniem wielonienienasyconych kwasów tłuszczowych w surowicy chorych z CF, a wydolnością układu oddechowego wyrażoną jako % FEV_1 [257]. W innych pracach wykazano pozytywny wpływ podaży WNDKT na zmniejszenie częstości zaostrzeń choroby oskrzelowo – płucnej [320]. Jednak większość z tych badań była prowadzona na małej liczbie pacjentów (nie więcej niż 20 chorych) i w krótkim okresie obserwacji (max 1 rok).

W niniejszej pracy nie zaobserwowano związku pomiędzy średnią procentową zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowycha parametrami wydolności oddechowej (FEV_1, FVC i FEF_{25-75}) oraz kolonizację przez najczestsze patogeny dróg oddechowych u dzieci z CF.

Podkreślana w literaturze potrzeba szerokiego spojrzenia na stan odżywienia również w odniesieniu do stanu klinicznego u dzieci chorych na mukowiscydozę jest uzasadniona ze względu na brak jednego wykładnika stanu odżywienia w tej grupie chorych. Ze względu na pogarszające się wraz z wiekiem parametry stanu odżywienia i co ważniejsze parametry składu ciała, uzasadniona jest również potrzeba stałej i regularnej obserwacji chorych, w wyspecjalizowanych ośrodkach, skupiających specjalistów z dziedziny pediatrii, pulmonologii, gastroenterologii oraz pomoc dietetyka, psychologa i pracownika socjalnego. Wczesna zintegrowana interwencja lecznicza wydaje się mieć wpływ na poprawę rokowania oraz poprawę jakości życia tych pacjentów. Przeprowadzone badania własne skłaniają do sformułowania następujących wniosków.

7. Wnioski

I.

a) U znacznego odsetka dzieci z mukowiscydozą obserwuje się niskorosłość, niedożywienie oraz zmiany w składzie ciała.

b) W przebiegu choroby dochodzi do niekorzystnych zmian w składzie ciała w postaci zmniejszenia beztłuszczowej masy ciała.

II. Na występowanie niedożywienia w przebiegu CF wskazują pośrednio niedobory witamin E, $25(OH)D_3$ i K1 w surowicy , a także jakościowe zmiany w profilu kwasów tłuszczowych, tj. kwasów nasyconych, jednonienasyconych i wielonienasyconych.

III. Parametry wydolności oddechowej dzieci z CF zależne są od wysokości i masą ciała, co wskazuje na potencjalny związek między stanem odżywienia a rokowaniem.

8. Streszczenie

Mukowiscydoza (CF) jest najczęściej występującą chorobą genetycznie uwarunkowaną u rasy białej. Jest to wielonarządowa choroba objawiającą się przede wszystkim chorobą oskrzelowo - płucną oraz niewydolnością enzymatyczną trzustki. Chorzy z mukowiscydozą, ze względu na zaburzenia trawienia i wchłaniania oraz zwiększone wydatki energetyczne pogłębiane również w trakcie zaostrzeń choroby oskrzelowo – płucnej są narażeni na niedożywienie. Ważnym czynnikiem prognostycznym przebiegu choroby oraz długości trwania życia chorego na mukowiscydozę jest ocena stanu odżywienia. Zły stan odżywienia koreluje z gorszym rokowaniem., co do przebiegu choroby. Wśród czynników wpływających negatywnie na stan odżywienia wymienia się przewlekłe zakażenie dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* oraz określone mutacje genu CFTR. Celem utrzymania prawidłowego stanu odżywienia rekomendowana jest dieta wysokoenergetyczna (120 - 150% zapotrzebowania energetycznego w porównaniu do zdrowych rówieśników), wysokotłuszczowa (35 - 45% energii) i bogatobiałkowa (15% energii). Niezbędnymi elementami terapii żywieniowej są: suplementacja enzymów trzustkowych u chorych z niewydolnością zewnątrzwydzielniczą trzustki oraz suplementacja witaminami rozpuszczalnymi w tłuszczach. Badania rozwoju fizycznego i pogłębiona ocena stanu odżywienia u dzieci z CF pozwala na wczesne rozpoznanie niedożywienia i szybkie włączenie odpowiedniego leczenia żywieniowego.

Celem pracy była prospektywna ocena wybranych parametrów antropometrycznych i składu ciała pacjentów z mukowiscydozą za pomocą poszerzonego zestawu pomiarów somatycznych o badanie bioimpedancji elektrycznej (BIA). A także pogłębiona analiza stanu odżywienia przy pomocy parametrów biochemicznych. Przeanalizowano również kliniczną przydatność parametrów stanu odżywienia w monitorowaniu stanu klinicznego dzieci z CF.

Badanie przeprowadzono u 75 pacjentów z CF (33 dziewcząt i 42 chłopców) w wieku od 9. miesiąca do 18. lat (średnia wieku 8,7 lat ± 5,3 SD) będących pod opieką Poradni Leczenia Mukowiscydozy w Gdańsku. Grupę kontrolną stanowiło 33 zdrowych dzieci (14 dziewcząt i 19 chłopców) w wieku od 9. miesiąca do 18 lat (średnia wieku 9,1 lat ± 5,3SD). Badania odbywały się w dwóch etapach – badanie wstępne podczas którego badano różnice między grupą dzieci z CF a grupa referencyjną oraz badanie prospektywne, po roku obserwacji dzieci z CF. Podczas każdego etapu badania u dzieci z obu grup przeprowadzono podstawowe badania antropometryczne - wysokości ciała, masy ciała, grubości fałdów skórno - tłuszczowych na ramieniu i pod łopatką, a także obwodu ramienia obliczając wskaźnik BMI , FFM%, FM% oraz wskaźnik Frisancho. Za pomocą BIA dokonano oceny FFM, FM, masy mięśniowej i TBW. U każdego probanta oznaczono parametry biochemiczne we krwi: stężenie poszczególnych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (technika LC - MS) oraz profil kwasów tłuszczowych (chromatografia gazowa) , natomiast z moczu: stężenie witaminy C (metoda elektroforezy

kapilarnej). Do obliczeń statystycznych użyto testów dostępnych w pakiecie Statistica.

Niedobór masy ciała stwierdzono u 28% badanych pacjentów, z czego u 17,33% dzieci stwierdzono niedożywienie znacznego stopnia (< 3. percentyla). Po roku od badania wstępnego średnia masa ciała dzieci z CF istotnie wzrosła (p = 0,000). Niedobór masy ciała był obserwowany wówczas u 41,2% pacjentów, z czego u 19,6% dzieci z CF stwierdzono silne niedożywienie (< 3. percentyla). Niskorosłość (< 3. percentyla) odnotowano u 14 pacjentów (18,67%). Po roku od badania wstepnego obserwowano tendencję wzrostową w przypadku wysokości ciała (p = 0,000). Niskorosłość rozpoznano wówczas u 21,6% pacjentów z CF. U 8% dzieci z CF stwierdzono, że wskaźnik BMI był ≤ 3 centyla. Na podstawie badań antropometrycznych stwierdzono, że średni procentowy udział masy tkanki tłuszczowej u dzieci z CF był niższy niż w grupie zdrowych rówieśników (p = 0,000). Po roku obserwacji stwierdzono, że dzieci z CF mają wyższą średnią zawartość tkanki tłuszczowej w organizmie (p = 0,003) i niższą średnią zawartość masy beztłuszczowej (p = 0,003). Wykazano, istotnie statystycznie obniżenie średniego stężenia witaminy 25(OH)D_3 (p = 0,000) witaminy E (p = 0,000) oraz witaminy K1 (p = 0,026) w surowicy u dzieci z CF. Zaobserwowano różnice w jakościowym profilu kwasów tłuszczowych: nasyconych, jednonienasyconych oraz wielonienasyconych, a różnice te były istotne statystycznie. Obserwowano istotne zwiększenie średniego procentowego udziału kwasów n-6: kwasu gamma-linolenowego oraz kwasu dihomo- gamma- linolenowego oraz obniżenie średniego procentowego udziału kwasu linolowego. Odnotowano istotny statystycznie związek między stanem odżywienia, wyrażonym w percentylu masy ciała i FEV_1 % (p = 0,007; R = 0,360) FVC% (p = 0,007; R = 0,361) FEF_{25-75}% (p = 0,001; R = 0,420) oraz percentylu wysokości ciała i FEF_{25-75}% (p = 0,002; R = 0,408) badanych dzieci z CF.

Wyniki prezentowanych badań pozwalają wnioskować, że pomimo znaczącego postępu w diagnostyce i terapii u dzieci z mukowiscydozą u znacznego odsetka dzieci, obserwuje się niskorosłość oraz niedożywienie. W trakcie przebiegu choroby dochodzi do niekorzystnych zmian w składzie ciała w postaci zmniejszenia beztłuszczowej masy ciała. Mimo suplementacji witamin rozpuszczalnych w tłuszczach, nadal obserwuje się niedobory witamin E, 25(OH)D_3, K1 w surowicy krwi dzieci z CF. Obserwowano zmiany w zakresie zawartości kwasów n-6 i n-3 we krwi u dzieci z CF. Ponieważ obserwuje się pozytywny związek pomiędzy wysokością i masą ciała a parametrami wydolności oddechowej, poprawa stanu odżywienia może być jednym z czynników poprawiających rokowanie w CF. Regularne monitorowanie stanu odżywienia z oceną składu ciała pozwala na szybką ocenę progresji choroby i ewentualną modyfikację leczenia żywieniowego.

9. Piśmiennictwo

[1] R. Busch, „What do we know about the history of cystic fibrosis", *Quebec Adult CF Newsl.*, ss. 28–30, 2005.

[2] J. Crossle, R. B. Elliot, i P. Smith, „Dried-blood spot screening for cystic fibrosis in the newborn", *The Lancet*, t. 313, nr 8114, ss. 472–474, 1979.

[3] B. Kerem, J. M. Rommens, J. A. Buchanan, D. Markiewicz, T. K. Cox, A. Chakravarti, M. Buchwald, i L.-C. Tsui, „Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis", *Science*, t. 245, nr 4922, ss. 1073–1080, 1989.

[4] J. M. Rommens, M. C. Iannuzzi, B. Kerem, M. L. Drumm, G. Melmer, M. Dean, R. Rozmahel, J. L. Cole, D. Kennedy, i N. Hidaka, „Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping", *Science*, t. 245, nr 4922, ss. 1059–1065, 1989.

[5] J. R. Riordan, J. M. Rommens, B. Kerem, N. Alon, R. Rozmahel, Z. Grzelczak, J. Zielenski, S. Lok, N. Plavsic, J.-L. Chou, M. Drumm, M. Ianuzzi, F. Collins, i L. Tsui, „Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA", *Science*, t. 245, nr 4922, ss. 1066–1073, 1989.

[6] G. Cutting, „Cystic fibrosis. Principles and Practice of Medical Genetics", ss. 2685–2717, 1999.

[7] P. Lewis, „The epidemiology of cystic fibrosis. In: Hodson ME, Geddes D, editors. 2nd ed. Cystic fibrosis.", *London:Arnold*, 2000.

[8] P. M. Farrell, „The prevalence of cystic fibrosis in the European Union", *J. Cyst. Fibros.*, t. 7, nr 5, ss. 450–453, 2008.

[9] A. Milanowski, D. Sands, A. Nowakowska, R. Piotrowski, K. Zybert, i M. Ołtarzewski, „Ocena kliniczna dzieci z mukowiscydozą rozpoznaną w wyniku badania przesiewowego noworodków w latach 1999 i 2000", *Pediatr Pol*, t. 77, ss. 459–468, 2002.

[10] B. Tuemmler i E. Puchelle, „CFTR: a multifaced molecule", *Trends Cell Biol*, nr 7, ss. 250–251, 1997.

[11] R. C. Boucher, „Airway surface dehydration in cystic fibrosis: pathogenesis and therapy", *Annu Rev Med*, t. 58, ss. 157–170, 2007.

[12] F. Jouret i O. Devuyst, „CFTR and defective endocytosis: new insights in the renal phenotype of cystic fibrosis", *Pflüg. Arch.-Eur. J. Physiol.*, t. 457, nr 6, ss. 1227–1236, 2009.

[13] M. Chanson, „Cystic fibrosis, fatty acid imbalance, ceramide and lipid rafts", *Arch. Pédiatrie Organe Off. Sociéte Fr. Pédiatrie*, t. 16, nr 6, s. 543, 2009.

[14] F. Borot, D.-L. Vieu, G. Faure, J. Fritsch, J. Colas, S. Moriceau, M. Baudouin-Legros, F. Brouillard, J. Ayala-Sanmartin, i L. Touqui, „Eicosanoid release is increased by membrane destabilization and CFTR inhibition in Calu-3 cells", *PloS One*, t. 4, nr 10, s. e7116, 2009.

[15] N. Vij, S. Mazur, i P. L. Zeitlin, „CFTR is a negative regulator of NFκB mediated innate immune response", *PloS One*, t. 4, nr 2, s. e4664, 2009.

[16] M. J. Welsh i A. E. Smith, „Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis", *Cell*, t. 73, nr 7, ss. 1251–1254, 1993.

[17] M. Wilschanski, J. Zielenski, D. Markiewicz, L.-C. Tsui, M. Corey, H. Levison, i P. R. Durie, „Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations", *J. Pediatr.*, t. 127, nr 5, ss. 705–710, 1995.

[18] L.-C. Tsui, „The spectrum of cystic fibrosis mutations", *Trends Genet.*, t. 8, nr 11, ss. 392–398, 1992.

[19] C. F. G. A. Consortium, „Cystic fibrosis mutation database", *See Httpwww Genet Sick.*

Cacftr, 2005.

[20] M. Schwartz, N. Sørensen, N. J. Brandt, E. Høgdall, i T. Holm, „High incidence of cystic fibrosis on the Faroe Islands: a molecular and genealogical study", *Hum. Genet.*, t. 95, nr 6, ss. 703–706, 1995.

[21] E. Yılmaz, H. Erdem, M. Özgüç, T. Coskun, U. Özçelik, A. Göçmen, i I. Özalp, „Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients", *Hum. Hered.*, t. 45, nr 3, ss. 175–177, 1995.

[22] L. L. Kulczycki, M. Kostuch, i J. A. Bellanti, „A clinical perspective of cystic fibrosis and new genetic findings: relationship of CFTR mutations to genotype–phenotype manifestations", *Am. J. Med. Genet. A.*, t. 116, nr 3, ss. 262–267, 2003.

[23] H. J. Lai, Y. Cheng, H. Cho, M. R. Kosorok, i P. M. Farrell, „Association between initial disease presentation, lung disease outcomes, and survival in patients with cystic fibrosis", *Am. J. Epidemiol.*, t. 159, nr 6, ss. 537–546, 2004.

[24] X. Zero, „The cystic fibrosis genotype-phenotype consortium: correlation between genotype and phenotype in cystic fibrosis", *N Engl J Med*, t. 329, ss. 1308–1313, 1993.

[25] E. Kerem i B. Kerem, „Genotype-phenotype correlations in cystic fibrosis", *Pediatr. Pulmonol.*, t. 22, nr 6, ss. 387–395, 1996.

[26] The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium, „Variable phenotypes for nine CFTR mutations associated with pancreatic sufficiency in CF patients", *Pediatr Pulmonol*, nr 13, s. Suppl: 245, 1996.

[27] C. Castellani, H. Cuppens, M. Macek, J. J. Cassiman, E. Kerem, P. Durie, E. Tullis, B. M. Assael, C. Bombieri, A. Brown, T. Calsas, M. Claustres, G. Cutting, E. Dequeker, J. Dodge, I. Doull, P. Farrell, C. Ferec, E. Girodon, M. Johannesson, B. Kerem, M. Knowles, A. Munck, P. Pignatti, D. Radojkovic, P. Rizzotti, M. Schwarz, M. Stuhrmann, M. Tzetis, J. Zielenski, i J. S. Elborn, „Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice", *J. Cyst. Fibros.*, t. 7, nr 3, ss. 179–196, 2008.

[28] J. Walkowiak, K.-H. Herzig, M. Witt, A. Pogorzelski, R. Piotrowski, E. Barra, A. Sobczynska-Tomaszewska, M. Trawinska-Bartnicka, K. Strzykala, W. Cichy, D. Sands, E. Rutkiewicz, i M. Krawczyński, „Analysis of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis: one mild CFTR mutation does not exclude pancreatic insufficiency", *Eur. J. Clin. Invest.*, t. 31, nr 9, ss. 796–801, 2001.

[29] J. Zielenski, „Genotype and phenotype in cystic fibrosis.", *Respir. Int. Rev. Thorac. Dis.*, t. 67, nr 2, ss. 117–133, 1999.

[30] E. F. McKone, C. H. Goss, i M. L. Aitken, „CFTR genotype as a predictor of prognosis in cystic fibrosis", *CHEST J.*, t. 130, nr 5, ss. 1441–1447, 2006.

[31] G. Taccetti, S. Campana, F. Festini, M. Mascherini, i G. Döring, „Early eradication therapy against Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis patients", *Eur. Respir. J.*, t. 26, nr 3, ss. 458–461, 2005.

[32] R. L. Gibson, J. L. Burns, i B. W. Ramsey, „Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, t. 168, nr 8, ss. 918–951, 2003.

[33] J. P. Mackenbach, A. E. Kunst, A. E. Cavelaars, F. Groenhof, J. J. Geurts, i E. W. G. on S. I. in Health, „Socioeconomic inequalities in morbidity and mortality in western Europe", *The lancet*, t. 349, nr 9066, ss. 1655–1659, 1997.

[34] M. W. Konstan, S. M. Butler, M. E. B. Wohl, M. Stoddard, R. Matousek, J. S. Wagener, C. A. Johnson, i W. J. Morgan, „Investigators and Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis", *J Pediatr*, t. 142, ss. 624–630, 2003.

[35] A. Smyth, U. O'Hea, G. Williams, R. Smyth, i D. Heaf, „Passive smoking and impaired lung function in cystic fibrosis.", *Arch. Dis. Child.*, t. 71, nr 4, ss. 353–354, 1994.

[36] P. B. Pencharz i P. R. Durie, „Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its

treatment", *Clin. Nutr.*, t. 19, nr 6, ss. 387–394, 2000.

[37] J. Walkowiak, A. Pogorzelski, D. Sands, W. Skorupa, A. Milanowski, A. Nowakowska, T. Orlik, A. Korzeniewska-Eksterowicz, A. Lisowska, S. Cofta, A. Minarowska, R. Piotrowski, A. Popiel, M. Rachel, A. Sobczyńska-Tomaszewska, R. Staszak-Kowalska, M. Teisseyre, M. Trawiska-Bartnicka, K. Walicka-Serzysko, M. Witt, i Woś, „Zasady rozpoznawania i leczenia mukowiscydozy. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Mukowiscydozy 2009 Poznań–Warszawa–Rzeszów", *Stand. Med.*, t. 6, ss. 352–378, 2009.

[38] B. Niklińska, L. L. Kulczycki, i S. Chyrek-Borkowska, „Current view on cystic fibrosis", *Mater.Med.Pol.*, nr 68, ss. 242–244, 1988.

[39] W. Skorupa, „Mukowiscydoza – choroba dzieci i dorosłych", *Klinika*, nr 1, ss. 5–9, 1995.

[40] M. Kostuch i J. Wojcierowski, „Mukowiscydoza", *Klin Pediat*, t. 4, nr 5, ss. 69–73, 1996.

[41] P. M. Quinton, „Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective", *Physiol. Rev.*, t. 79, nr 1, ss. S3–S22, 1999.

[42] A. Pogorzelski, „i wsp.: Chory na mukowiscydozę z prawidłowymi wynikami testu potowego", *Ped Pol*, t. 72, ss. 541–544, 1997.

[43] M. Witt i L. Majka, „Mukowiscydoza – choroba dobrze poznana, jednak ciągle zagadkowa", *Alerg Astma Immun*, t. 2, nr 3, ss. 157–161, 1997.

[44] D. Kennedy, „Medical managment of sinusitis:education goals and managment guidelines", *Ann Otol Rhinol Laryngol*, nr 104 (suppl. 167), ss. 22–30, 1995.

[45] P. Brihaye, P. A. Clement, I. Dab, i B. Desprechin, „Pathological changes of the lateral nasal wall in patients with cystic fibrosis (mucoviscidosis)", *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, t. 28, nr 2, ss. 141–147, 1994.

[46] T. V. McCaffrey, *Rhinologic diagnosis and treatment*. Thieme, 1997.

[47] D. Babiński, „Stan otolaryngologiczny u chorych na mukowiscydozę ze współistniejącą alergią", *Nowa Pediat*, t. 3, nr 6, ss. 18–20, 1999.

[48] I. Gooding i D. Westaby, „Gastrointestinal disease in cystic fibrosis", *Cyst. Fibros.*, t. 3, ss. 209–224, 2007.

[49] C. Taylor i J. Hardcastle, „Gut disease: clinical manifestations, pathophysiology, current and new treatments", 2006.

[50] A. Pogorzelski, „ebrak J", *Zasady Rozpoznawania Mukowiscydozy Klin Pediatr*, t. 6, ss. 17–20, 1998.

[51] R. C. Stern, „The diagnosis of cystic fibrosis", *N. Engl. J. Med.*, t. 336, nr 7, ss. 487–491, 1997.

[52] R. T. L. Couper, M. Corey, P. R. Durie, G. G. Forstner, i D. J. Moore, „Longitudinal evaluation of serum trypsinogen measurement in pancreatic-insufficient and pancreatic-sufficient patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 127, nr 3, ss. 408–413, 1995.

[53] A. L. Brennan, D. M. Geddes, K. M. Gyi, i E. H. Baker, „Clinical importance of cystic fibrosis-related diabetes", *J. Cyst. Fibros.*, t. 3, nr 4, ss. 209–222, 2004.

[54] K. De Boeck, M. Wilschanski, C. Castellani, C. Taylor, H. Cuppens, J. Dodge, i M. Sinaasappel, „Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms", *Thorax*, t. 61, nr 7, ss. 627–635, 2006.

[55] T. Lamireau, S. Monnereau, S. Martin, J.-E. Marcotte, M. Winnock, i F. Alvarez, „Epidemiology of liver disease in cystic fibrosis: a longitudinal study", *J. Hepatol.*, t. 41, nr 6, ss. 920–925, 2004.

[56] S. Chitturi i G. C. Farrell, „Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis.", w *Seminars in liver disease*, 2000, t. 21, ss. 27–41.

[57] M. R. Narkewicz, „Markers of Cystic Fibrosis—Associated Liver Disease", *J. Pediatr.*

Gastroenterol. Nutr., t. 32, nr 4, ss. 421–422, 2001.

[58] K. L. Nash, M. E. Allison, D. McKeon, D. J. Lomas, C. S. Haworth, D. Bilton, i G. J. Alexander, „A single centre experience of liver disease in adults with cystic fibrosis 1995–2006", *J. Cyst. Fibros.*, t. 7, nr 3, ss. 252–257, 2008.

[59] K. M. Hayllar, S. G. Williams, A. E. Wise, S. Pouria, M. Lombard, M. E. Hodson, i D. Westaby, „A prognostic model for the prediction of survival in cystic fibrosis.", *Thorax*, t. 52, nr 4, ss. 313–317, 1997.

[60] M. Angelico, C. Gandin, P. Canuzzi, S. Bertasi, A. Cantafora, A. de Santis, S. Quattrucci, i M. Antonelli, „Gallstones in cystic fibrosis: a critical reappraisal", *Hepatology*, t. 14, nr 5, ss. 768–775, 1991.

[61] X. Dray, T. Bienvenu, N. Desmazes—dufeu, D. Dusser, P. Marteau, i D. Hubert, „Distal intestinal obstruction syndrome in adults with cystic fibrosis", *Clin. Gastroenterol. Hepatol.*, t. 2, nr 6, ss. 498–503, 2004.

[62] E. V. O'Loughlin, D. M. Hunt, K. J. Gaskin, D. Stiel, I. M. Bruzuszcak, H. C. Martin, C. Bambach, i R. Smith, „Abnormal epithelial transport in cystic fibrosis jejunum", *Am. J. Physiol.-Gastrointest. Liver Physiol.*, t. 260, nr 5, ss. G758–G763, 1991.

[63] P. C. Gregory, „Gastrointestinal pH, motility/transit and permeability in cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 23, nr 5, ss. 513–523, 1996.

[64] S. Rubinstein, R. Moss, i N. Lewiston, „Constipation and meconium ileus equivalent in patients with cystic fibrosis", *Pediatrics*, t. 78, nr 3, ss. 473–479, 1986.

[65] K. R. Gardiner i B. Cranley, „Acute presentation of cystic fibrosis in an adult.", *Postgrad. Med. J.*, t. 65, nr 765, ss. 471–472, 1989.

[66] A. Pogorzelski i J. Żebrak, „Zasady leczenia chorych na mukowiscydozę", *Klin Pediat*, t. 4, nr 3, ss. 33–42, 1996.

[67] B. M. Button, S. Roberts, T. C. Kotsimbos, B. J. Levvey, T. J. Williams, M. Bailey, G. I. Snell, i J. W. Wilson, „Gastroesophageal reflux (symptomatic and silent): a potentially significant problem in patients with cystic fibrosis before and after lung transplantation", *J. Heart Lung Transplant.*, t. 24, nr 10, ss. 1522–1529, 2005.

[68] A. Anguiano, R. D. Oates, J. A. Amos, M. Dean, B. Gerrard, C. Stewart, T. A. Maher, M. B. White, i A. Milunsky, „Congenital bilateral absence of the vas deferens: a primarily genital form of cystic fibrosis", *Jama*, t. 267, nr 13, ss. 1794–1797, 1992.

[69] M. Chillón, T. Casals, B. Mercier, L. Bassas, W. Lissens, S. Silber, M.-C. Romey, J. Ruiz-Romero, C. Verlingue, i M. Claustres, „Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens", *N. Engl. J. Med.*, t. 332, nr 22, ss. 1475–1480, 1995.

[70] G. J. Canny, M. Corey, R. A. Livingstone, S. Carpenter, L. Green, i H. Levison, „Pregnancy and cystic fibrosis.", *Obstet. Gynecol.*, t. 77, nr 6, ss. 850–853, 1991.

[71] J. Dixey, A. N. Redington, R. C. Butler, M. J. Smith, J. R. Batchelor, D. F. Woodrow, M. E. Hodson, J. C. Batten, i D. A. Brewerton, „The arthropathy of cystic fibrosis.", *Ann. Rheum. Dis.*, t. 47, nr 3, ss. 218–223, 1988.

[72] S. P. Conway, A. M. Morton, B. Oldroyd, J. G. Truscott, H. White, A. H. Smith, i I. Haigh, „Osteoporosis and osteopenia in adults and adolescents with cystic fibrosis: prevalence and associated factors", *Thorax*, t. 55, nr 9, ss. 798–804, 2000.

[73] J. Walkowiak, S. Nousia-Arvanitakis, C. Agguridaki, M. Fotoulaki, K. Strzykala, A. Balassopoulou, M. Witt, i K.-H. Herzig, „Longitudinal follow-up of exocrine pancreatic function in pancreatic sufficient cystic fibrosis patients using the fecal elastase-1 test", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 36, nr 4, ss. 474–478, 2003.

[74] J. Charzewska, „Ocena stanu odżywienia.", *Żyw. Człowieka Podstawy Nauki O Żywieniu Pod Red J Gawęckiego LHryniewieckiego PWN Warszawa*, ss. 481–494, 1998.

[75] I. Palczewska, „Metody oceny rozwoju somatycznego”, *Auksologia Red Mięsowicz Wydaw. Akad. Pedagog. Spec. Warszawa*, s. 165, 2001.

[76] M. Jodkowska, B. Woynarowska, i A. Oblacińska, „Test przesiewowy do wykrywania zaburzeń w rozwoju fizycznym u dzieci i młodzieży w wieku szkolnym”, *Inst. Matki Dziecka Warszawa*, t. 12, 2007.

[77] M. Krawczyński, „Metody oceny rozwoju fizycznego–wykorzystywane w praktyce poradnianej”, *Przew. Lek.*, t. 4, nr 4, ss. 92–96, 2001.

[78] I. Palczewska i Z. Niedzwiedzka, „Wskazniki rozwoju somatycznego dzieci I mlodziezy Warszawskiej.”, *Med Wieku Rozw.*, t. 5, nr 2 Suppl 1, ss. 18–118, 2001.

[79] WHO, „International Pediatric Association Endorsement The New WHO Growth Standards for Infants and Young Children, 20 April 2006. World Health Organization.”, *http://www.who.int/childgrowth/Endorsement_IPA.pdf*, 10-cze-2015. .

[80] WHO, „Design of the WHO Multicentre Growth Refrence Study. Methodology.”, *http://www.who.int/childgrowth/standards/Chap_2.pdf?ua=1*, 10-cze-2015. .

[81] I. Palczewska, I. Szilágyi-Pągowska, i K. Pawlik-Chmielewska, „Metody antropometryczne w ocenie rozwoju somatycznego dzieci z chorobami metabolicznymi”, *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw*, t. 9, nr 1, ss. 49–54, 2003.

[82] J. J. Reilly, „Assessment of body composition in infants and children”, *Nutrition*, t. 14, nr 10, ss. 821–825, 1998.

[83] H. C. Lukaski, „Methods for the assessment of human body composition: traditional and new.”, *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 46, nr 4, ss. 537–556, 1987.

[84] P. Płudowski, „Analiza składu ciała - przegląd metod i ich subiektywna ocena młodego badacza”, *Stand Med*, nr 4, ss. 251–256, 2007.

[85] M. Azcue, M. Fried, i P. B. Pencharz, „Use of bioelectrical impedance analysis to measure total body water in patients with cystic fibrosis.”, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 16, nr 4, ss. 440–445, 1993.

[86] L. T Beker, E. Russek-Cohen, i R. J. Fink, „Stature as a prognostic factor in cystic fibrosis survival”, *J. Am. Diet. Assoc.*, t. 101, nr 4, ss. 438–442, 2001.

[87] R. B. Mazess, H. S. Barden, J. P. Bisek, i J. Hanson, „Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition.”, *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 51, nr 6, ss. 1106–1112, 1990.

[88] C. F. Anderson i D. N. Wochos, „The utility of serum albumin values in the nutritional assessment of hospitalized patients.”, w *Mayo Clinic Proceedings*, 1982, t. 57, ss. 181–184.

[89] P. M. Starker, F. E. Gump, J. Askanazi, D. H. Elwyn, i J. M. Kinney, „Serum albumin levels as an index of nutritional support.”, *Surgery*, t. 91, nr 2, ss. 194–199, 1982.

[90] A. M. Spiekerman, „Proteins used in nutritional assessment.”, *Clin. Lab. Med.*, t. 13, nr 2, ss. 353–369, 1993.

[91] D. R. Clemmons, L. E. Underwood, R. N. Dickerson, R. O. Brown, L. J. Hak, R. D. MacPhee, i W. D. Heizer, „Use of plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor I measurements to monitor the response to nutritional repletion in malnourished patients.”, *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 41, nr 2, ss. 191–198, 1985.

[92] A. Suwała, K. Ziora, i D. Landowska, „Budowa i funkcja insulinopodobnych czynników wzrostowych oraz objawy kliniczne niedoboru IGF-1”, *Endokrynol. Pediatryczna*, nr 3(32), ss. 47–62, 2010.

[93] J. I. Jones i D. R. Clemmons, „Insulin-Like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions*”, *Endocr. Rev.*, t. 16, nr 1, ss. 3–34, 1995.

[94] R. G. Rosenfeld i P. Cohen, „Disorders of growth hormone/insulin-like growth factor secretion and action”, *Pediatr. Endocrinol. Phila. PA Saunders Pgs*, ss. 211–288, 2002.

[95] J. Walkowiak i W. Cichy, „Mukowiscydoza–nadal aktualny problem diagnostyczny i terapeutyczny", *Przew. Lek.*, t. 9, ss. 86–90, 2001.

[96] M. A. Thomson, P. Quirk, C. E. Swanson, B. J. Thomas, T. L. Holt, P. J. Francis, i R. W. Shepherd, „Nutritional growth retardation is associated with defective lung growth in cystic fibrosis: a preventable determinant of progressive pulmonary dysfunction.", *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif*, t. 11, nr 4, ss. 350–354, 1994.

[97] T. Amagai, T. Mouri, K. Kirii, T. Hori, M. Kaneko, i H. Ohkawa, „Clinical significance of measurement of resting energy expenditure in childhood", *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, t. 29, nr S4, ss. S19–S22, 2002.

[98] S. C. Bell, M. J. Saunders, J. S. Elborn, i D. J. Shale, „Resting energy expenditure and oxygen cost of breathing in patients with cystic fibrosis.", *Thorax*, t. 51, nr 2, ss. 126–131, 1996.

[99] R. M. Buchdahl, M. Cox, C. Fulleylove, J. L. Marchant, A. M. Tomkins, M. J. Brueton, i J. O. Warner, „Increased resting energy expenditure in cystic fibrosis", *J. Appl. Physiol.*, t. 64, nr 5, ss. 1810–1816, 1988.

[100] A. O'Rawe, J. A. Dodge, A. O. B. Redmond, I. McIntosh, i D. J. H. Brock, „Gene/energy interaction in cystic fibrosis", *The Lancet*, t. 335, nr 8688, ss. 552–553, 1990.

[101] N. Vaisman, P. B. Pencharz, M. Corey, G. J. Canny, i E. Hahn, „Energy expenditure of patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 111, nr 4, ss. 496–500, 1987.

[102] B. S. Zemel, D. A. Kawchak, A. Cnaan, H. Zhao, T. F. Scanlin, i V. A. Stallings, „Prospective evaluation of resting energy expenditure, nutritional status, pulmonary function, and genotype in children with cystic fibrosis", *Pediatr. Res.*, t. 40, nr 4, ss. 578–586, 1996.

[103] N. Valsman, L. D. Levy, P. B. Pencharz, Y. K. Tan, S. J. Soldin, G. J. Canny, i E. Hahn, „Effect of salbutamol on resting energy expenditure in patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 111, nr 1, ss. 137–139, 1987.

[104] R. H. Houwen, H. P. van der Doef, I. Sermet, A. Munck, B. Hauser, J. Walkowiak, E. Robberecht, C. Colombo, M. Sinaasappel, i M. Wilschanski, „Defining DIOS and constipation in cystic fibrosis with a multicentre study on the incidence, characteristics, and treatment of DIOS", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 50, nr 1, ss. 38–42, 2010.

[105] J. Fridge, R. Castillo, C. Conrad, i K. Cox, „Small bowel bacterial overgrowth in cystic fibrosis", w *Gastroenterology*, 2005, t. 128, ss. A167–A167.

[106] H. Kopelman, M. Corey, K. Gaskin, P. Durie, Z. V. I. Weizman, i G. Forstner, „Impaired chloride secretion, as well as bicarbonate secretion, underlies the fluid secretory defect in the cystic fibrosis pancreas", *Gastroenterology*, t. 95, nr 2, ss. 349–355, 1988.

[107] B. D. Riedel, „Gastrointestinal manifestations of cystic fibrosis", *Pediatr Ann*, nr 26, ss. 235–241, 1997.

[108] D. Celińska-Cedro, B. Oralewska, i E. Barr, „Gastro-oesophageal reflux in CF children - are we undertreating?", *XIIth Int. Cyst. Fibros. Congr.*, s. 239.

[109] J. C. Felger i F. E. Lotrich, „Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications", *Neuroscience*, t. 246, ss. 199–229, 2013.

[110] A. M. Morton, „Symposium 6: Young people, artificial nutrition and transitional care The nutritional challenges of the young adult with cystic fibrosis: transition", *Proc. Nutr. Soc.*, t. 68, nr 04, ss. 430–440, 2009.

[111] J. I. Schall, T. Bentley, i V. A. Stallings, „Meal patterns, dietary fat intake and pancreatic enzyme use in preadolescent children with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 43, nr 5, ss. 651–659, 2006.

[112] R. Sharma, V. G. Florea, A. P. Bolger, W. Doehner, N. D. Florea, A. J. S. Coats, M. E. Hodson, S. D. Anker, i M. Y. Henein, „Wasting as an independent predictor of mortality in patients with cystic fibrosis", *Thorax*, t. 56, nr 10, ss. 746–750, 2001.

[113] G. Steinkamp i B. Wiedemann, „Relationship between nutritional status and lung function in cystic fibrosis: cross sectional and longitudinal analyses from the German CF quality assurance (CFQA) project", *Thorax*, t. 57, nr 7, ss. 596–601, 2002.

[114] M. Kosińska, A. Szwed, J. Cieślik, J. Goździk, i K. Karbowy, „Assessment of the biological condition and nutritional status of adult patients with cystic fibrosis", *Anth Rev*, t. 68, ss. 53–64, 2005.

[115] E. M. Laursen, C. Koch, J. H. Petersen, i J. Müller, „Secular changes in anthropometric data in cystic fibrosis patients", *Acta Paediatr.*, t. 88, nr 2, ss. 169–174, 1999.

[116] W. Umławska, D. Sands, i A. Zielińska, „Age of menarche in girls with cystic fibrosis.", *Folia Histochem. Cytobiol.*, t. 48, nr 2, ss. 185–184, 2010.

[117] W. Umlawska i C. Susanne, „Growth and nutritional status in children and adolescents with cystic fibrosis", *Ann. Hum. Biol.*, t. 35, nr 2, ss. 145–153, 2008.

[118] M. Rubinowicz, R. Piotrowski, i R. Nowobilski, „Charakterystyka wybranych parametrów antropometrycznych i klinicznych u dzieci chorych na mukowiscydozę", *Pneumonol. Alergol. Pol.*, t. 73, nr 3–4, ss. 172–177, 2005.

[119] J. Walkowiak, „Stan odżywienia i rozwój fizyczny dzieci chorych na mukowiscydozę w świetle podstawowych wskaźników wagowych i wzrostowych", *Przegl Pediatr*, t. 28, ss. 208–212, 1998.

[120] S. Morison, J. A. Dodge, T. J. Cole, P. A. Lewis, E. C. Coles, D. Geddes, G. Russell, J. M. Littlewood, i M. T. Scott, „Height and weight in cystic fibrosis: a cross sectional study", *Arch. Dis. Child.*, t. 77, nr 6, ss. 497–500, 1997.

[121] D. Constantini, C. Secco Rozzani, i D. Arban, „Growth evaluation in Cystic Fibrosis", *Acta Medica Auxol.*, nr 23, ss. 91–98, 1991.

[122] F. Santamaha, D. Salvatore, i L. Greco, „Growth patterns in Cystic Fibrosis", *Acta Medica Auxol.*, nr 33, ss. 47–50, 2001.

[123] I. Palczewska, I. Szilágyi-Pągowska, A. Nowakowska, R. Piotrowski, D. Sands, i A. Malinowski, „Rozwój fizyczny dzieci chorych na mukowiscydozę ze szczególnym uwzględnieniem stanu odżywienia", *Pediatr. Pol.*, nr 6 (supl.), s. 89, 1999.

[124] M. Groeneweg, S. Tan, A. M. Boot, J. C. de Jongste, J. Bouquet, i M. Sinaasappel, „Assessment of nutritional status in children with cystic fibrosis: conventional anthropometry and bioelectrical impedance analysis. A cross-sectional study in Dutch patients", *J. Cyst. Fibros.*, t. 1, nr 4, ss. 276–280, 2002.

[125] I. Sermet-Gaudelus, J. C. Souberbielle, I. Azhar, J. C. Ruiz, P. Magnine, V. Colomb, C. Le Bihan, D. Folio, i G. Lenoir, „Insulin-like growth factor I correlates with lean body mass in cystic fibrosis patients", *Arch. Dis. Child.*, t. 88, nr 11, ss. 956–961, 2003.

[126] L. Lancellotti, C. D'Orazio, G. Mastella, G. Mazzi, i U. Lippi, „Deficiency of vitamins E and A in cystic fibrosis is independent of pancreatic function and current enzyme and vitamin supplementation", *Eur. J. Pediatr.*, t. 155, nr 4, ss. 281–285, 1996.

[127] T. Flass i M. R. Narkewicz, „Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis", *J. Cyst. Fibros.*, t. 12, nr 2, ss. 116–124, 2013.

[128] M. Sinaasappel, M. Stern, J. Littlewood, S. Wolfe, G. Steinkamp, H. G. Heijerman, E. Robberecht, i G. Döring, „Nutrition in patients with cystic fibrosis: a European Consensus", *J. Cyst. Fibros.*, t. 1, nr 2, ss. 51–75, 2002.

[129] A. Lindblad, U. Diczfalusy, R. Hultcrantz, A. Thorell, i B. Strandvik, „Vitamin A concentration in the liver decreases with age in patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 24, nr 3, ss. 264–270, 1997.

[130] R. K. Brown, H. Wyatt, J. F. Price, i F. J. Kelly, „Pulmonary dysfunction in cystic fibrosis is associated with oxidative stress", *Eur. Respir. J.*, t. 9, nr 2, ss. 334–339, 1996.

[131] B. M. Winklhofer-Roob, D. H. Shmerling, M. G. Schimek, i P. E. Tuchschmid, „Short-term changes in erythrocyte alpha-tocopherol content of vitamin E-deficient patients with cystic fibrosis.”, *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 55, nr 1, ss. 100–103, 1992.

[132] H. Skopnik, G. Kusenbach, U. Bergt, F. Friedrichs, H. Stuhlsatz, H. Döhmen, i G. Heimann, „[Taurine supplementation in cystic fibrosis (CF): effect on vitamin E absorption kinetics]”, *Klin. Padiatr.*, t. 203, nr 1, ss. 28–32, 1990.

[133] P. Thomas, M. Bellamy, i D. Geddes, „Malabsorption of vitamin E in cystic fibrosis improved after ursodeoxycholic acid”, *The Lancet*, t. 346, nr 8984, ss. 1230–1231, 1995.

[134] I. L. Swann i J. R. Kendra, „Anaemia, vitamin E deficiency and failure to thrive in an infant”, *Clin. Lab. Haematol.*, t. 20, nr 1, s. 61, 1998.

[135] A. M. Bye, D. P. Muller, J. Wilson, V. M. Wright, i M. B. Mearns, „Symptomatic vitamin E deficiency in cystic fibrosis.”, *Arch. Dis. Child.*, t. 60, nr 2, ss. 162–164, 1985.

[136] S. De Vriese, E. Robberecht, J. De Gussem, i A. Christophe, „FEV1 correlates with plasma vitamin E in young cystic fibrosis (CF) patients: an argument for early administration?”, *Neth. J Med*, nr 54:S61, s. A144.

[137] A. Feranchak, M. Sontag, J. Wagener, K. Hammond, F. Accurso, i R. Sokol, „Prospective, long-term study of fat – soluble vitamin status in children with cystic fibrosis”, *Hum Genet*, nr 57, ss. 399–403, 1981.

[138] R. C. Henderson i C. D. Madsen, „Bone mineral content and body composition in children and young adults with cystic fibrosis”, *Pediatr. Pulmonol.*, t. 27, nr 2, ss. 80–84, 1999.

[139] P. N. Black i R. Scragg, „Relationship between serum 25-hydroxyvitamin d and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey”, *CHEST J.*, t. 128, nr 6, ss. 3792–3798, 2005.

[140] I. Rigo, L. McMahon, P. Dhawan, S. Christakos, S. Yim, L. K. Ryan, i G. Diamond, „Induction of triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM-1) in airway epithelial cells by 1, 25 (OH) 2 vitamin D3”, *Innate Immun.*, t. 18, nr 2, ss. 250–257, 2012.

[141] S. Yim, P. Dhawan, C. Ragunath, S. Christakos, i G. Diamond, „Induction of cathelicidin in normal and CF bronchial epithelial cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D 3”, *J. Cyst. Fibros.*, t. 6, nr 6, ss. 403–410, 2007.

[142] L. Adorini i G. Penna, „Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system”, *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, t. 4, nr 8, ss. 404–412, 2008.

[143] P. McNally, C. Coughlan, G. Bergsson, M. Doyle, C. Taggart, L. Adorini, M. R. Uskokovic, B. El-Nazir, P. Murphy, i P. Greally, „Vitamin D receptor agonists inhibit pro-inflammatory cytokine production from the respiratory epithelium in cystic fibrosis”, *J. Cyst. Fibros.*, t. 10, nr 6, ss. 428–434, 2011.

[144] W. P. Sexauer, A. Hadeh, P. A. Ohman-Strickland, R. L. Zanni, L. Varlotta, D. Holsclaw, S. Fiel, G. R. Graff, A. Atlas, i D. Bisberg, „Vitamin D deficiency is associated with pulmonary dysfunction in cystic fibrosis”, *J. Cyst. Fibros.*, 2015.

[145] M. Shiraki, Y. Shiraki, C. Aoki, i M. Miura, „Vitamin K2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis”, *J. Bone Miner. Res.*, t. 15, nr 3, ss. 515–521, 2000.

[146] Y. Koshihara i K. Hoshi, „Vitamin K2 enhances osteocalcin accumulation in the extracellular matrix of human osteoblasts in vitro”, *J. Bone Miner. Res.*, t. 12, nr 3, ss. 431–438, 1997.

[147] P. R. Durie, „Vitamin K and the management of patients with cystic fibrosis.”, *CMAJ Can. Med. Assoc. J.*, t. 151, nr 7, s. 933, 1994.

[148] V. A. Jagannath, Z. Fedorowicz, V. Thaker, A. B. Chang, i N. Al-Harthy, „Vitamin K supplementation for cystic fibrosis (Protocol)”, *Cochrane Collab.*, nr 4, ss. 1–9, 2010.

[149] K. Mosler, R. von Kries, C. Vermeer, J. Saupe, T. Schmitz, i A. Schuster, „Assessment of

vitamin K deficiency in CF—how much sophistication is useful?", *J. Cyst. Fibros.*, t. 2, nr 2, ss. 91–96, 2003.

[150] B. Hamid i A. Khan, „Cerebral hemorrhage as the initial manifestation of cystic fibrosis", *J. Child Neurol.*, t. 22, nr 1, ss. 114–115, 2007.

[151] G. L. McPhail, „Coagulation disorder as a presentation of cystic fibrosis", *J. Emerg. Med.*, t. 38, nr 3, ss. 320–322, 2010.

[152] A. Popova, J. Foley, i S. Z. Nasr, „Bleeding diathesis due to vitamin K deficiency in an infant with cystic fibrosis", *Respir. Med. CME*, t. 3, nr 3, ss. 165–166, 2010.

[153] T. Verghese i D. Beverley, „Vitamin K deficient bleeding in cystic fibrosis", *Arch. Dis. Child.*, t. 88, nr 6, s. 553, 2003.

[154] D. R. Mager, P. L. McGee, K. N. Furuya, i E. A. Roberts, „Prevalence of vitamin K deficiency in children with mild to moderate chronic liver disease", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 42, nr 1, ss. 71–76, 2006.

[155] K. Watanabe, T. Naraki, i Y. Iwasaki, „Method of determination of PIVKA", *Biotechnol. Adv.*, t. 15, nr 1, ss. 259–259, 1997.

[156] S. P. Conway, „Vitamin K in cystic fibrosis.", *J. R. Soc. Med.*, t. 97, nr Suppl 44, s. 48, 2004.

[157] B. M. Winklhofer-Roob, H. Ellemunter, M. Frühwirth, S. E. Schlegel-Haueter, G. Khoschsorur, M. A. Van't Hof, i D. H. Shmerling, „Plasma vitamin C concentrations in patients with cystic fibrosis: evidence of associations with lung inflammation.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 65, nr 6, ss. 1858–1866, 1997.

[158] S. B. Carr i J. McBratney, „The role of vitamins in cystic fibrosis.", *J. R. Soc. Med.*, t. 93, nr Suppl 38, s. 14, 2000.

[159] T. Fukuwatari, E. Yoshida, K. Takahashi, i K. Shibata, „Effect of fasting on the urinary excretion of water-soluble vitamins in humans and rats", *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, t. 56, nr 1, ss. 19–26, 2010.

[160] R. Mahdavi, E. Faramarzi, E. Seyedrezazadeh, M. Mohammad-Zadeh, i M. Pourmoghaddam, „Evaluation of oxidative stress, antioxidant status and serum vitamin C levels in cancer patients", *Biol. Trace Elem. Res.*, t. 130, nr 1, ss. 1–6, 2009.

[161] B. Strandvik, M. Brönnegård, H. Gilljam, i J. Carlstedt-Duke, „Relation between defective regulation of arachidonic acid release and symptoms in cystic fibrosis", *Scand. J. Gastroenterol.*, t. 23, nr S143, ss. 1–4, 1988.

[162] B. Strandvik, „Relation between essential fatty acid metabolism and gastrointestinal symptoms in cystic fibrosis.", *Acta Paediatr. Scand. Suppl.*, t. 363, ss. 58–63; discussion 63–5, 1988.

[163] J. Walkowiak, M. Wilczynski, I. Boleslawska, A. Lisowska, K. Strzykala, i J. Przyslawski, „Zaburzenia profilu wielonienasyconych kwasow tluszczowych nie wystepuja u chorych na mukowiscydoze z lagodna ekspresja kliniczna choroby", *Żyw. Człowieka Metab.*, t. 30, nr 3–4, ss. 870–873, 2003.

[164] A. Maqbool, J. I. Schall, J. F. Garcia-Espana, B. S. Zemel, B. Strandvik, i V. A. Stallings, „Serum linoleic acid status as a clinical indicator of essential fatty acid status in children with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 47, nr 5, ss. 635–644, 2008.

[165] B. Strandvik, E. Gronowitz, F. Enlund, T. Martinsson, i J. Wahlström, „Essential fatty acid deficiency in relation to genotype in patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 139, nr 5, ss. 650–655, 2001.

[166] F. N. Bhura-Bandali, M. Suh, S. P. Man, i M. T. Clandinin, „The ΔF508 mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator alters control of essential fatty acid utilization in epithelial cells", *J. Nutr.*, t. 130, nr 12, ss. 2870–2875, 2000.

[167] S. D. Freedman, M. H. Katz, E. M. Parker, M. Laposata, M. Y. Urman, i J. G. Alvarez, „A

membrane lipid imbalance plays a role in the phenotypic expression of cystic fibrosis in cftr−/− mice", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, t. 96, nr 24, ss. 13995–14000, 1999.

[168] G. Steinkamp, H. Demmelmair, I. Rühl-Bagheri, H. von der Hardt, i B. Koletzko, „Energy supplements rich in linoleic acid improve body weight and essential fatty acid status of cystic fibrosis patients", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 31, nr 4, ss. 418–423, 2000.

[169] D. Rubin i M. Laposata, „Cellular interactions between n-6 and n-3 fatty acids: a mass analysis of fatty acid elongation/desaturation, distribution among complex lipids, and conversion to eicosanoids.", *J. Lipid Res.*, t. 33, nr 10, ss. 1431–1440, 1992.

[170] M. Roulet, P. Frascarolo, I. Rappaz, i M. Pilet, „Essential fatty acid deficiency in well nourished young cystic fibrosis patients", *Eur. J. Pediatr.*, t. 156, nr 12, ss. 952–956, 1997.

[171] A. B. Christophe, W. J. Warwick, i R. T. Holman, „Serum fatty acid profiles in cystic fibrosis patients and their parents", *Lipids*, t. 29, nr 8, ss. 569–575, 1994.

[172] S. D. Freedman, P. G. Blanco, M. M. Zaman, J. C. Shea, M. Ollero, I. K. Hopper, D. A. Weed, A. Gelrud, M. M. Regan, i M. Laposata, „Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism", *N. Engl. J. Med.*, t. 350, nr 6, ss. 560–569, 2004.

[173] M. Corey, F. J. McLaughlin, M. Williams, i H. Levison, „A comparison of survival, growth, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto", *J. Clin. Epidemiol.*, t. 41, nr 6, ss. 583–591, 1988.

[174] B. W. Ramsey, P. M. Farrell, i P. Pencharz, „Nutritional assessment and management in cystic fibrosis: a consensus report. The Consensus Committee.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 55, nr 1, ss. 108–116, 1992.

[175] M. W. Konstan, S. M. Butler, M. E. B. Wohl, M. Stoddard, R. Matousek, J. S. Wagener, C. A. Johnson, W. J. Morgan, i I. C. of the E. S. of C. Fibrosis, „Growth and nutritional indexes in early life predict pulmonary function in cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 142, nr 6, ss. 624–630, 2003.

[176] D. Borowitz, R. D. Baker, i V. Stallings, „Consensus report on nutrition for pediatric patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 35, nr 3, ss. 246–259, 2002.

[177] J. Walkowiak i J. Przyslawski, „Five-year prospective analysis of dietary intake and clinical status in malnourished cystic fibrosis patients", *J. Hum. Nutr. Diet.*, t. 16, nr 4, ss. 225–231, 2003.

[178] 177. Cystis Fibrosis Foundation, „Cystis Fibrosis Foundation Patient Registry Annual Report 2000", *Bethesda Cystis Fibros. Found.*, 2001.

[179] J. A. Dodge, P. A. Lewis, M. Stanton, i J. Wilsher, „Cystic fibrosis mortality and survival in the UK: 1947–2003", *Eur. Respir. J.*, t. 29, nr 3, ss. 522–526, 2007.

[180] O. A. Minai i M. M. Budev, „Referral for lung transplantation: a moving target", *CHEST J.*, t. 127, nr 3, ss. 705–707, 2005.

[181] T. Lamireau, S. Martin, M. Lallier, J. E. Marcotte, i F. Alvarez, „Liver transplantation for cirrhosis in cystic fibrosis", *Can. J. Gastroenterol.*, t. 20, nr 7, s. 475, 2006.

[182] D. Sands, A. Nowakowska, R. Piotrowski, K. Zybert, i A. Milanowski, „Postępowanie diagnostyczne w mukowiscydozie", *Przegl Pediatr*, t. 33, ss. 198–203, 2003.

[183] W. Tomalak, J. Radliński, A. Pogorzelski, i Z. Doniec, „Reference values for forced inspiratory flows in children aged 7–15 years", *Pediatr. Pulmonol.*, t. 38, nr 3, ss. 246–249, 2004.

[184] G. Willim, R. Kurzawa, H. Mazurek, J. Hałuszka, U. Jędrys-Kłucjasz, B. Baran, i J. Radliński, „Wartości należne wskaźników oddechowych dzieci i młodzieży", *IGiChP Oddz. W Rabce*, ss. 1–62, 1998.

[185] S. Beharry, L. Ellis, M. Corey, M. Marcon, i P. Durie, „How useful is fecal pancreatic elastase 1 as a marker of exocrine pancreatic disease?", *J. Pediatr.*, t. 141, nr 1, ss. 84–90,

2002.

[186] J. Walkowiak, K.-H. Herzig, K. Strzykala, J. Przyslawski, i M. Krawczynski, „Fecal elastase-1 is superior to fecal chymotrypsin in the assessment of pancreatic involvement in cystic fibrosis", *Pediatrics*, t. 110, nr 1, ss. e7–e7, 2002.

[187] E. Kerem, S. Conway, S. Elborn, H. Heijerman, i C. Committee, „Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus", *J. Cyst. Fibros.*, t. 4, nr 1, ss. 7–26, 2005.

[188] R. Martin i K. Saller, „Lehrbuch der Anthropologie in systematischer Darstellung", *Band Gustav Fisch. Verl. Stuttg.*, ss. 488–595, 1957.

[189] M. H. Slaughter, T. G. Lohman, Ra. Boileau, C. A. Horswill, R. J. Stillman, M. D. Van Loan, i D. A. Bemben, „Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth", *Hum. Biol.*, ss. 709–723, 1988.

[190] A. R. Frisancho, „Triceps skin fold and upper arm muscle size norms for assessment of nutritional status", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 27, nr 10, ss. 1052–1058, 1974.

[191] A. Lewitt, E. Mądro, i A. Krupienicz, „Podstawy teoretyczne i zastosowania analizy impedancji bioelektrycznej (BIA)", *Endokrynol. Otyłość Zaburzenia Przemiany Materii*, t. 2, nr 4, ss. 79–84, 2007.

[192] K. O. McKay, „Cystic fibrosis: benefits and clinical outcome", *J. Inherit. Metab. Dis.*, t. 30, nr 4, ss. 544–555, 2007.

[193] A. Sobczyńska-Tomaszewska, M. Ołtarzewski, K. Czerska, K. Wertheim-Tysarowska, D. Sands, J. Walkowiak, J. Bal, i T. Mazurczak, „Newborn screening for cystic fibrosis: Polish 4 years' experience with CFTR sequencing strategy", *Eur. J. Hum. Genet.*, t. 21, nr 4, ss. 391–396, 2013.

[194] M. H. Schöni i C. Casaulta-Aebischer, „Nutrition and lung function in cystic fibrosis patients: review", *Clin. Nutr.*, t. 19, nr 2, ss. 79–85, 2000.

[195] J. Walkowiak, M. Krawczyński, i J. Gawęcki, „Mukowiscydoza - nieuchronne niedożywienie?", *http://imed.pl/index.php?PAGE=telegram&TEL_CUR_ID=281&return=archives*, 10-cze-2015. [Online]. Dostępne na: http://www.imed.pl/index.php?PAGE=telegram&TEL CUR ID=281&return=archives.

[196] L. Patel, M. Dixon, i T. J. David, „Growth and growth charts in cystic fibrosis.", *J. R. Soc. Med.*, t. 96, nr Suppl 43, s. 35, 2003.

[197] Z. Kułaga, A. Różdżyńska, I. Palczewska, A. Grajda, B. Gurzkowska, E. Napieralska, M. Litwin, i O. Grupa Badaczy, „Siatki centylowe wysokości, masy ciała i wskaźnika masy ciała dzieci i młodzieży w Polsce-wyniki badania OLAF. Standardy Medyczne", *Pediatria (Santiago)*, t. 7, ss. 690–700, 2010.

[198] V. J. Poustie, J. E. Russell, R. M. Watling, D. Ashby, i R. L. Smyth, „Oral protein energy supplements for children with cystic fibrosis: CALICO multicentre randomised controlled trial.", *BMJ*, t. 332, nr 7542, ss. 632–636, mar. 2006.

[199] M. Tutak-Słupska, B. Stępień-Jaszowska, R. Staszak-Kowalska, J. Krawczyk-Karlińska, i M. Zając, „Ocena stanu odżywienia i składu ciała pacjentów z mukowiscydozą", *Pediatr. Pol.*, t. 87, nr 2, ss. 146–153, 2012.

[200] A. Jezele-Stanek, „Stanowisko grupy ekspertów w sprawie oceny sposobu żywienia i stanu odżywienia", *Stand Med*, t. 5, ss. 16–19, 2008.

[201] I. Palczewska, „Ocena rozwoju somatycznego", w *ABC zabiegów w Pediatrii*, I., 2010, ss. 91–102.

[202] J. Ryżko, „Ocena stanu odżywienia u dzieci", *Przegląd Pediatryczny*, t. 27, nr 1, ss. 27–30, 1997.

[203] M. Szczepanik, M. Krawczyński, W. Cichy, i J. Walkowiak, „Rozwój fizyczny dzieci z mukowiscydozą z województwa wielkopolskiego", *Ped Prakt*, t. 8, ss. 397–410, 2000.

[204] A. Zielińska, D. Sands, i A. Milanowski, „Wymiary i proporcje ciała oraz stan odżywienia dzieci chorych na mukowiscydozę (cystic fibrosis)", *Stand Med Pediatr*, t. 3, 2006.

[205] W. Umławska, M. Krzyżanowska, A. Zielińska, i D. Sands, „Ocena stanu odżywienia oraz czynności płuc dzieci i młodzieży z mukowiscydozą", *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.*, t. 18, nr 4, ss. 137–142, 2012.

[206] H.-C. Lai, M. R. Kosorok, S. A. Sondel, S.-T. Chen, S. C. FitzSimmons, C. G. Green, G. Shen, S. Walker, i P. M. Farrell, „Growth status in children with cystic fibrosis based on the National Cystic Fibrosis Patient Registry data: evaluation of various criteria used to identify malnutrition", *J. Pediatr.*, t. 132, nr 3, ss. 478–485, 1998.

[207] N. Aswani, C. J. Taylor, J. McGaw, M. Pickering, i A. S. Rigby, „Pubertal growth and development in cystic fibrosis: a retrospective review", *Acta Paediatr.*, t. 92, nr 9, ss. 1029–1032, 2003.

[208] M. Nir, S. Lanng, H. K. Johansen, i C. Koch, „Long-term survival and nutritional data in patients with cystic fibrosis treated in a Danish centre.", *Thorax*, t. 51, nr 10, ss. 1023–1027, 1996.

[209] C. E. Collins, L. MacDonald-Wicks, S. Rowe, E. V. O'Loughlin, i R. L. Henry, „Normal growth in cystic fibrosis associated with a specialised centre", *Arch. Dis. Child.*, t. 81, nr 3, ss. 241–246, 1999.

[210] W. Umławska i A. Prusek-Dudkiewicz, „Niskorosłoœć u dzieci z niektórymi schorzeniami przewlekłymi", 2007.

[211] P. M. Farrell, M. R. Kosorok, M. J. Rock, A. Laxova, L. Zeng, H.-C. Lai, G. Hoffman, R. H. Laessig, i M. L. Splaingard, „Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth", *Pediatrics*, t. 107, nr 1, ss. 1–13, 2001.

[212] P. M. Farrell, M. R. Kosorok, A. Laxova, G. Shen, R. E. Koscik, W. T. Bruns, M. Splaingard, i E. H. Mischler, „Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis", *N. Engl. J. Med.*, t. 337, nr 14, ss. 963–969, 1997.

[213] E. Kerem, J. Reisman, M. Corey, G. J. Canny, i H. Levison, „Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis", *N. Engl. J. Med.*, t. 326, nr 18, ss. 1187–1191, 1992.

[214] B. S. Zemel, A. F. Jawad, S. FitzSimmons, i V. A. Stallings, „Longitudinal relationship among growth, nutritional status, and pulmonary function in children with cystic fibrosis: analysis of the Cystic Fibrosis Foundation National CF Patient Registry", *J. Pediatr.*, t. 137, nr 3, ss. 374–380, 2000.

[215] P. Lebecque, T. Leal, K. Zylberberg, G. Reychler, X. Bossuyt, i V. Godding, „Towards zero prevalence of chronic Pseudomonas aeruginosa infection in children with cystic fibrosis", *J. Cyst. Fibros.*, t. 5, nr 4, ss. 237–244, 2006.

[216] M. L. Whiteford, J. D. Wilkinson, J. H. McColl, F. M. Conlon, J. R. Michie, T. J. Evans, i J. Y. Paton, „Outcome of Burkholderia (Pseudomonas) cepacia colonisation in children with cystic fibrosis following a hospital outbreak.", *Thorax*, t. 50, nr 11, ss. 1194–1198, 1995.

[217] S. D. Sagel, R. L. Gibson, J. Emerson, S. McNamara, J. L. Burns, J. S. Wagener, B. W. Ramsey, I. T. in Y. C. S. Group, i C. F. F. T. D. Network, „Impact of Pseudomonas and Staphylococcus infection on inflammation and clinical status in young children with cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 154, nr 2, ss. 183–188. e3, 2009.

[218] K. R. Boye, T. Dimitriou, F. Manz, E. Schoenau, C. Neu, S. Wudy, i T. Remer, „Anthropometric assessment of muscularity during growth: estimating fat-free mass with 2 skinfold-thickness measurements is superior to measuring midupper arm muscle area in healthy prepubertal children", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 76, nr 3, ss. 628–632, 2002.

[219] E. F. Jelliffe i D. B. Jelliffe, „The arm circumference as a public health index of protein-calorie malnutrition of early childhood.”, *J. Trop. Pediatr.*, t. 15, nr 4, ss. 179–260, 1969.

[220] G. Rodriguez, L. A. Moreno, M. G. Blay, V. A. Blay, J. Fleta, A. Sarria, i M. Bueno, „Body fat measurement in adolescents: comparison of skinfold thickness equations with dual-energy X-ray absorptiometry”, *Eur. J. Clin. Nutr.*, t. 59, nr 10, ss. 1158–1166, 2005.

[221] J. J. Reilly, J. Wilson, i J. V. Durnin, „Determination of body composition from skinfold thickness: a validation study.”, *Arch. Dis. Child.*, t. 73, nr 4, ss. 305–310, 1995.

[222] J. C. Eisenmann, K. A. Heelan, i G. J. Welk, „Assessing body composition among 3-to 8-year-old children: Anthropometry, bia, and dxa”, *Obes. Res.*, t. 12, nr 10, ss. 1633–1640, 2004.

[223] M. Mast, A. Sönnichsen, K. Langnäse, K. Labitzke, U. Bruse, U. Preuß, i M. J. Müller, „Inconsistencies in bioelectrical impedance and anthropometric measurements of fat mass in a field study of prepubertal children”, *Br. J. Nutr.*, t. 87, nr 02, ss. 163–175, 2002.

[224] P. Pecoraro, B. Guida, M. Caroli, R. Trio, C. Falconi, S. Principato, i A. Pietrobelli, „Body mass index and skinfold thickness versus bioimpedance analysis: fat mass prediction in children”, *Acta Diabetol.*, t. 40, nr 1, ss. s278–s281, 2003.

[225] S. Chomtho, M. S. Fewtrell, A. Jaffe, J. E. Williams, i J. C. Wells, „Evaluation of arm anthropometry for assessing pediatric body composition: evidence from healthy and sick children”, *Pediatr. Res.*, t. 59, nr 6, ss. 860–865, 2006.

[226] M. Beaumesnil, E. Chaillou, A. C. Wagner, A. Rouquette, M. Audran, i J. L. Ginies, „[Body composition analysis in patients with cystic fibrosis. Comparison of 3 methods: dual energy x-ray absorptiometry, bioelectrical impedance analysis, and skinfold measurements].”, *Arch. Pediatr. Organe Off. Soc. Francaise Pediatr.*, t. 18, nr 4, ss. 370–375, 2011.

[227] S. King, J. Wilson, T. Kotsimbos, M. Bailey, i I. Nyulasi, „Body composition assessment in adults with cystic fibrosis: comparison of dual-energy X-ray absorptiometry with skinfolds and bioelectrical impedance analysis”, *Nutrition*, t. 21, nr 11, ss. 1087–1094, 2005.

[228] G. B. Forbes, „Perspectives on body composition”, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, t. 5, nr 1, ss. 25–30, 2002.

[229] L. C. Lands, C. Gordon, O. Bar-Or, C. J. Blimkie, R. M. Hanning, N. L. Jones, L. A. Moss, C. E. Webber, W. M. Wilson, i G. J. Heigenhauser, „Comparison of three techniques for body composition analysis in cystic fibrosis”, *J. Appl. Physiol.*, t. 75, nr 1, ss. 162–166, 1993.

[230] E. Jakubowska-Pietkiewicz, A. Prochowska, W. Fendler, i A. Szadkowska, „Porównanie metod pomiaru odsetka tkanki tłuszczowej u dzieci”, *Pediatr. Endocrinol. Diabetes Metab.*, t. 15, nr 4, ss. 246–250, 2009.

[231] L.-F. Liu, R. Roberts, L. Moyer-Mileur, i L. Samson-Fang, „Determination of body composition in children with cerebral palsy: bioelectrical impedance analysis and anthropometry vs dual-energy x-ray absorptiometry”, *J. Am. Diet. Assoc.*, t. 105, nr 5, ss. 794–797, 2005.

[232] L. Bott, L. Béghin, E. Gondon, R. Hankard, V. Pierrat, i F. Gottrand, „Body composition in children with bronchopulmonary dysplasia predicted from bioelectric impedance and anthropometric variables: Comparison with a reference dual X-ray absorptiometry”, *Clin. Nutr.*, t. 25, nr 5, ss. 810–815, 2006.

[233] S. Sheikh, B. S. Zemel, V. A. Stallings, R. C. Rubenstein, i A. Kelly, „Body composition and pulmonary function in cystic fibrosis.”, *Front. Pediatr.*, t. 2, 2014.

[234] J. E. Williams, J. C. Wells, C. Benden, A. Jaffe, R. Suri, C. M. Wilson, i M. S. Fewtrell, „Body composition assessed by the 4-component model and association with lung function in 6-12-y-old children with cystic fibrosis.”, *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 92, nr 6, ss. 1332–1343, grudz. 2010.

[235] M. Miller, L. C. Ward, B. J. Thomas, W. G. Cooksley, i R. W. Shepherd, „Altered body

composition and muscle protein degradation in nutritionally growth-retarded children with cystic fibrosis.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 36, nr 3, ss. 492–499, 1982.

[236] J. S. Garrow, K. Fletcher, i D. Halliday, „Body composition in severe infantile malnutrition", *J. Clin. Invest.*, t. 44, nr 3, s. 417, 1965.

[237] G. F. Cahill Jr, „Starvation in man.", *N. Engl. J. Med.*, t. 282, nr 12, ss. 668–675, 1970.

[238] M. M. Rothkopf, G. Stanislaus, L. Haverstick, V. Kvetan, i J. Askanazi, „Invited Review: Nutritional Support in Respiratory Failure", *Nutr. Clin. Pract.*, t. 4, nr 5, ss. 166–172, 1989.

[239] S. C. Bell, A. M. Bowerman, L. E. Nixon, I. A. Macdonald, J. S. Elborn, i D. J. Shale, „Metabolic and inflammatory responses to pulmonary exacerbation in adults with cystic fibrosis.", *Eur. J. Clin. Invest.*, t. 30, nr 6, ss. 553–559, cze. 2000.

[240] P. Kortebein, A. Ferrando, J. Lombeida, R. Wolfe, i W. J. Evans, „Effect of 10 days of bed rest on skeletal muscle in healthy older adults.", *JAMA*, t. 297, nr 16, ss. 1772–1774, kwi. 2007.

[241] M. Drey, „Sarcopenia - pathophysiology and clinical relevance.", *Wien. Med. Wochenschr. 1946*, t. 161, nr 17–18, ss. 402–408, wrz. 2011.

[242] S. C. Barry i C. G. Gallagher, „Corticosteroids and skeletal muscle function in cystic fibrosis.", *J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985*, t. 95, nr 4, ss. 1379–1384, paź. 2003.

[243] S. Enright, K. Chatham, A. A. Ionescu, V. B. Unnithan, i D. J. Shale, „The influence of body composition on respiratory muscle, lung function and diaphragm thickness in adults with cystic fibrosis.", *J. Cyst. Fibros. Off. J. Eur. Cyst. Fibros. Soc.*, t. 6, nr 6, ss. 384–390, lis. 2007.

[244] R. Lazarus, C. J. Gore, M. Booth, i N. Owen, „Effects of body composition and fat distribution on ventilatory function in adults.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 68, nr 1, lip. 1998.

[245] E. I. Mohamed, C. Maiolo, L. Iacopino, M. Pepe, N. Di Daniele, i A. De Lorenzo, „The impact of body-weight components on forced spirometry in healthy italians.", *Lung*, t. 180, nr 3, ss. 149–159, 2002.

[246] A. A. Ionescu, K. Chatham, C. A. Davies, L. S. Nixon, S. Enright, i D. J. Shale, „Inspiratory muscle function and body composition in cystic fibrosis.", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, t. 158, nr 4, ss. 1271–1276, paź. 1998.

[247] A. A. Ionescu, L. S. Nixon, S. Luzio, V. Lewis-Jenkins, W. D. Evans, M. D. Stone, D. R. Owens, P. A. Routledge, i D. J. Shale, „Pulmonary function, body composition, and protein catabolism in adults with cystic fibrosis.", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, t. 165, nr 4, luty 2002.

[248] R. Shepherd, W. G. E. Cooksley, i W. D. Cooke, „Improved growth and clinical, nutritional, and respiratory changes in response to nutritional therapy in cystic fibrosis", *J. Pediatr.*, t. 97, nr 3, ss. 351–357, 1980.

[249] A. L. Coates, P. Boyce, D. Muller, M. Mearns, i S. Godfrey, „The role of nutritional status, airway obstruction, hypoxia, and abnormalities in serum lipid composition in limiting exercise tolerance in children with cystic fibrosis.", *Acta Paediatr. Scand.*, t. 69, nr 3, ss. 353–358, maj 1980.

[250] H. C. Selvadurai, C. J. Blimkie, N. Meyers, C. M. Mellis, P. J. Cooper, i P. P. Van Asperen, „Randomized controlled study of in-hospital exercise training programs in children with cystic fibrosis.", *Pediatr. Pulmonol.*, t. 33, nr 3, mar. 2002.

[251] D. M. Orenstein, M. F. Hovell, M. Mulvihill, K. K. Keating, C. R. Hofstetter, S. Kelsey, K. Morris, i P. A. Nixon, „Strength vs aerobic training in children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial.", *Chest*, t. 126, nr 4, ss. 1204–1214, paź. 2004.

[252] P. H. C. Klijn, A. Oudshoorn, C. K. van der Ent, J. van der Net, J. L. Kimpen, i P. J. M. Helders, „Effects of anaerobic training in children with cystic fibrosis: a randomized controlled study.", *Chest*, t. 125, nr 4, ss. 1299–1305, kwi. 2004.

[253] M. Kalivianakis, D. M. Minich, C. M. Bijleveld, W. M. van Aalderen, F. Stellaard, M. Laseur, R. J. Vonk, i H. J. Verkade, „Fat malabsorption in cystic fibrosis patients receiving enzyme replacement therapy is due to impaired intestinal uptake of long-chain fatty acids", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 69, nr 1, ss. 127–134, 1999.

[254] S. D. Sagel, M. K. Sontag, M. M. Anthony, P. Emmett, i K. A. Papas, „Effect of an antioxidant-rich multivitamin supplement in cystic fibrosis", *J. Cyst. Fibros.*, t. 10, nr 1, ss. 31–36, 2011.

[255] M. Lagrange-Puget, I. Durieu, R. Ecochard, F. Abbas-Chorfa, J. Drai, J.-P. Steghens, Y. Pacheco, D. Vital-Durand, i G. Bellon, „Longitudinal study of oxidative status in 312 cystic fibrosis patients in stable state and during bronchial exacerbation", *Pediatr. Pulmonol.*, t. 38, nr 1, ss. 43–49, 2004.

[256] T. Ntimbane, P. Krishnamoorthy, C. Huot, L. Legault, S. V. Jacob, S. Brunet, E. Levy, F. Guéraud, L. C. Lands, i B. Comte, „Oxidative stress and cystic fibrosis-related diabetes: a pilot study in children", *J. Cyst. Fibros.*, t. 7, nr 5, ss. 373–384, 2008.

[257] L. G. Wood, D. A. Fitzgerald, P. G. Gibson, D. M. Cooper, C. E. Collins, i M. L. Garg, „Oxidative stress in cystic fibrosis: dietary and metabolic factors", *J. Am. Coll. Nutr.*, t. 20, nr 2, ss. 157–165, 2001.

[258] M. Chełchowska, D. Sands, M. Mielus, T. Laskowska-Klita, i A. Milanowski, „Wpływ diety opartej na specjalistycznym preparacie do żywienia niemowląt chorych na mukowiscydozę na stężenie witamin A i E we krwi", *Pediatr. Pol.*, t. 82, nr 8, ss. 631–634, 2007.

[259] A. Maqbool, R. C. Graham-Maar, J. I. Schall, B. S. Zemel, i V. A. Stallings, „Vitamin A intake and elevated serum retinol levels in children and young adults with cystic fibrosis", *J. Cyst. Fibros.*, t. 7, nr 2, ss. 137–141, 2008.

[260] J. R. Yankaskas, B. C. Marshall, B. Sufian, R. H. Simon, i D. Rodman, „Cystic fibrosis adult care: consensus conference report", *CHEST J.*, t. 125, nr 1_suppl, s. 1S–39S, 2004.

[261] A. P. Basu, P. Kumar, A. M. Devlin, i C. J. O'Brien, „Cystic fibrosis presenting with bilateral facial palsy", *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, t. 11, nr 4, ss. 240–242, 2007.

[262] K. L. Penniston i S. A. Tanumihardjo, „The acute and chronic toxic effects of vitamin A", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 83, nr 2, ss. 191–201, 2006.

[263] R. C. Graham-Maar, J. I. Schall, N. Stettler, B. S. Zemel, i V. A. Stallings, „Elevated vitamin A intake and serum retinol in preadolescent children with cystic fibrosis.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 84, nr 1, ss. 174–182, lip. 2006.

[264] F. Hakim, E. Kerem, J. Rivlin, L. Bentur, H. Stankiewicz, T. Bdolach-Abram, i M. Wilschanski, „Vitamins A and E and pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 45, nr 3, ss. 347–353, 2007.

[265] I. Sadowska-Woda, M. Rachel, J. Pazdan, E. Bieszczad-Bedrejczuk, i K. Pawliszak, „Nutritional supplement attenuates selected oxidative stress markers in pediatric patients with cystic fibrosis", *Nutr. Res.*, t. 31, nr 7, ss. 509–518, 2011.

[266] S. H. Huang, J. I. Schall, B. S. Zemel, i V. A. Stallings, „Vitamin E status in children with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency", *J. Pediatr.*, t. 148, nr 4, ss. 556–559. e1, 2006.

[267] R. J. Sokol, M. C. Reardon, F. J. Accurso, C. Stall, M. Narkewicz, S. H. Abman, i K. B. Hammond, „Fat-soluble-vitamin status during the first year of life in infants with cystic fibrosis identified by screening of newborns.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 50, nr 5, ss. 1064–1071, 1989.

[268] P. M. Farrell, J. G. Bieri, J. F. Fratantoni, R. E. Wood, i P. A. di Sant'Agnese, „The occurrence and effects of human vitamin E deficiency: a study in patients with cystic fibrosis", *J. Clin. Invest.*, t. 60, nr 1, s. 233, 1977.

[269] M. Krzysik, J. Biernat, i H. Grajeta, „Wpływ wybranych składników odżywczych pożywienia na funkcjonowanie układu odpornościowego Cz. II. Immunomodulacyjne działanie witamin i

pierwiastków śladowych na organizm człowieka", *Adv Clin Exp Med*, t. 16, nr 1, ss. 123–133, 2007.

[270] M. Rutkowski, T. Matuszewski, J. Kędziora, M. Paradowski, K. Kłos, i A. Zakrzewski, „Witaminy E, A i C jako antyoksydanty", *Pol Merk Lek*, t. 29, ss. 377–81, 2010.

[271] S. R. Boas, J. R. Hageman, L. T. Ho, i M. Liveris, „Very high-dose ergocalciferol is effective for correcting vitamin D deficiency in children and young adults with cystic fibrosis", *J. Cyst. Fibros.*, t. 8, nr 4, ss. 270–272, 2009.

[272] D. Shepherd, Y. Belessis, T. Katz, J. Morton, P. Field, i A. Jaffe, „Single high-dose oral vitamin D 3 (stoss) therapy—A solution to vitamin D deficiency in children with cystic fibrosis?", *J. Cyst. Fibros.*, t. 12, nr 2, ss. 177–182, 2013.

[273] P. Lips, „Vitamin D physiology", *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, t. 92, nr 1, ss. 4–8, 2006.

[274] M. F. Holick, „The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: mechanisms of action", *Mol. Aspects Med.*, t. 29, nr 6, ss. 361–368, 2008.

[275] M. F. Holick, „The vitamin D epidemic and its health consequences", *J. Nutr.*, t. 135, nr 11, s. 2739S–2748S, 2005.

[276] A. J. Rovner, V. A. Stallings, J. I. Schall, M. B. Leonard, i B. S. Zemel, „Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 86, nr 6, ss. 1694–1699, 2007.

[277] C. M. Gordon, E. J. Anderson, K. Herlyn, J. L. Hubbard, A. Pizzo, R. Gelbard, A. Lapey, i P. A. Merkel, „Nutrient status of adults with cystic fibrosis", *J. Am. Diet. Assoc.*, t. 107, nr 12, ss. 2114–2119, 2007.

[278] A. S. Neri, I. Lori, F. Festini, L. Masi, M. L. Brandi, V. Galici, C. Braggion, i G. Taccetti, „Bone mineral density in cystic fibrosis patients under the age of 18 years.", *Minerva Pediatr.*, t. 60, nr 2, ss. 147–154, 2008.

[279] T. L. Clemens, S. L. Henderson, J. S. Adams, i M. F. Holick, „Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D 3", *The Lancet*, t. 319, nr 8263, ss. 74–76, 1982.

[280] L. Y. Matsuoka, L. Ide, J. Wortsman, J. A. MacLauhlin, i M. F. Holick, „Sunscreens Suppress Cutaneous Vitamin D3 Synthesis*", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, t. 64, nr 6, ss. 1165–1168, 1987.

[281] J. A. MacLaughlin, R. R. Anderson, i M. F. Holick, „Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin", *Science*, t. 216, nr 4549, ss. 1001–1003, 1982.

[282] L. L. Wolfenden, S. E. Judd, R. Shah, R. Sanyal, T. R. Ziegler, i V. Tangpricha, „Vitamin D and bone health in adults with cystic fibrosis", *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, t. 69, nr 3, ss. 374–381, 2008.

[283] I. Laaksi, J.-P. Ruohola, P. Tuohimaa, A. Auvinen, R. Haataja, H. Pihlajamäki, i T. Ylikomi, „An association of serum vitamin D concentrations< 40 nmol/L with acute respiratory tract infection in young Finnish men", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 86, nr 3, ss. 714–717, 2007.

[284] R. E. Kleinman i M. S. Fracchia, „Vitamin K and cystic fibrosis: give me a double, please", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 92, nr 3, ss. 469–470, 2010.

[285] L. T. Beker, R. A. Ahrens, R. J. Fink, M. E. O'Brien, K. W. Davidson, L. J. Sokoll, i J. A. Sadowski, „Effect of vitamin K1 supplementation on vitamin K status in cystic fibrosis patients.", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 24, nr 5, ss. 512–517, maj 1997.

[286] D. Drury, V. L. Grey, G. Ferland, C. Gundberg, i L. C. Lands, „Efficacy of high dose phylloquinone in correcting vitamin K deficiency in cystic fibrosis.", *J. Cyst. Fibros. Off. J. Eur. Cyst. Fibros. Soc.*, t. 7, nr 5, ss. 457–459, wrz. 2008.

[287] P. Nicolaidou, I. Stavrinadis, I. Loukou, A. Papadopoulou, H. Georgouli, K. Douros, K. N.

Priftis, D. Gourgiotis, Y. G. Matsinos, i S. Doudounakis, „The effect of vitamin K supplementation on biochemical markers of bone formation in children and adolescents with cystic fibrosis", *Eur. J. Pediatr.*, t. 165, nr 8, ss. 540–545, 2006.

[288] C. W. Thane, C. J. Bates, M. J. Shearer, N. Unadkat, D. J. Harrington, A. A. Paul, A. Prentice, i C. Bolton-Smith, „Plasma phylloquinone (vitamin K 1) concentration and its relationship to intake in a national sample of British elderly people", *Br. J. Nutr.*, t. 87, nr 06, ss. 615–622, 2002.

[289] G. Schubiger, J. Grüter, i M. J. Shearer, „Plasma vitamin K1 and PIVKA-II after oral administration of mixed-micellar or cremophor EL-solubilized preparations of vitamin K1 to normal breast-fed newborns", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 24, nr 3, ss. 280–284, 1997.

[290] K. A. Dougherty, J. I. Schall, i V. A. Stallings, „Suboptimal vitamin K status despite supplementation in children and young adults with cystic fibrosis", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 92, nr 3, ss. 660–667, 2010.

[291] M. Rashid, P. Durie, M. Andrew, D. Kalnins, J. Shin, M. Corey, E. Tullis, i P. B. Pencharz, „Prevalence of vitamin K deficiency in cystic fibrosis", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 70, nr 3, ss. 378–382, 1999.

[292] D. C. Wilson, M. Rashid, P. R. Durie, A. Tsang, D. Kalnins, M. Andrew, M. Corey, J. Shin, E. Tullis, i P. B. Pencharz, „Treatment of vitamin K deficiency in cystic fibrosis: effectiveness of a daily fat-soluble vitamin combination", *J. Pediatr.*, t. 138, nr 6, ss. 851–855, 2001.

[293] T. K. Amukele, G. S. Baird, i W. L. Chandler, „Reducing the use of coagulation test panels", *Blood Coagul. Fibrinolysis*, t. 22, nr 8, ss. 688–695, 2011.

[294] H. Fischer, C. Schwarzer, i B. Illek, „Vitamin C controls the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel", *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, t. 101, nr 10, ss. 3691–3696, 2004.

[295] J. Z. Nowak, „[Anti-inflammatory pro-resolving derivatives of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids].", *Postepy Hig. Med. Doswiadczalnej Online*, t. 64, ss. 115–132, 2009.

[296] M. Dona, G. Fredman, J. M. Schwab, N. Chiang, M. Arita, A. Goodarzi, G. Cheng, U. H. von Andrian, i C. N. Serhan, „Resolvin E1, an EPA-derived mediator in whole blood, selectively counterregulates leukocytes and platelets", *Blood*, t. 112, nr 3, ss. 848–855, 2008.

[297] W. J. Lukiw, J.-G. Cui, V. L. Marcheselli, M. Bodker, A. Botkjaer, K. Gotlinger, C. N. Serhan, i N. G. Bazan, „A role for docosahexaenoic acid–derived neuroprotectin D1 in neural cell survival and Alzheimer disease", *J. Clin. Invest.*, t. 115, nr 10, s. 2774, 2005.

[298] N. G. Bazan, „Cellular and molecular events mediated by docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 signaling in photoreceptor cell survival and brain protection", *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, t. 81, nr 2, ss. 205–211, 2009.

[299] A. Gil, „Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases", *Biomed. Pharmacother.*, t. 56, nr 8, ss. 388–396, 2002.

[300] T. C. Coste, M. Armand, J. Lebacq, P. Lebecque, P. Wallemacq, i T. Leal, „An overview of monitoring and supplementation of omega 3 fatty acids in cystic fibrosis", *Clin. Biochem.*, t. 40, nr 8, ss. 511–520, 2007.

[301] G. Olveira, C. Olveira, E. Acosta, F. Espíldora, L. Garrido-Sánchez, E. García-Escobar, G. Rojo-Martínez, M. Gonzalo, i F. Soriguer, „Fatty acid supplementation improves respiratory, inflammatory and nutritional parameters in adults with cystic fibrosis", *Arch. Bronconeumol. Engl. Ed.*, t. 46, nr 2, ss. 70–77, 2010.

[302] W. Chen, W. J. Esselman, D. B. Jump, i J. V. Busik, „Anti-inflammatory effect of docosahexaenoic acid on cytokine-induced adhesion molecule expression in human retinal vascular endothelial cells", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, t. 46, nr 11, s. 4342, 2005.

[303] T. Trebble, N. K. Arden, M. A. Stroud, S. A. Wootton, G. C. Burdge, E. A. Miles, A. B. Ballinger, R. L. Thompson, i P. C. Calder, „Inhibition of tumour necrosis factor-a and interleukin 6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation", *Br. J. Nutr.*, t. 90, nr 2, ss. 405–412, 2003.

[304] H. Li, X. Z. Ruan, S. H. Powis, R. Fernando, W. Y. Mon, D. C. Wheeler, J. F. Moorhead, i Z. Varghese, „EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2 cells: Evidence for a PPAR-γ–dependent mechanism", *Kidney Int.*, t. 67, nr 3, ss. 867–874, 2005.

[305] M. H. Jørgensen, P. Ott, K. F. Michaelsen, T. Porsgaard, F. Jensen, i S. Lanng, „Long-chain PUFA in granulocytes, mononuclear cells, and RBC in patients with cystic fibrosis: relation to liver disease", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 55, nr 1, ss. 76–81, 2012.

[306] B. A. Underwood, C. R. Denning, i M. Navab, „Polyunsaturated fatty acids and tocopherol levels in patients with cystic fibrosis", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, t. 203, nr 1, ss. 237–247, 1972.

[307] L. G. Wood, D. A. Fitzgerald, i M. L. Garg, „Hypothesis: vitamin E complements polyunsaturated fatty acids in essential fatty acid deficiency in cystic fibrosis", *J. Am. Coll. Nutr.*, t. 22, nr 4, ss. 253–257, 2003.

[308] I. Batal, M.-B. Ericsoussi, J. E. Cluette-Brown, B. P. O'sullivan, S. D. Freedman, J. E. Savaille, i M. Laposata, „Potential utility of plasma fatty acid analysis in the diagnosis of cystic fibrosis", *Clin. Chem.*, t. 53, nr 1, ss. 78–84, 2007.

[309] S. D. Freedman, M. H. Katz, E. M. Parker, M. Laposata, M. Y. Urman, i J. G. Alvarez, „A membrane lipid imbalance plays a role in the phenotypic expression of cystic fibrosis in cftr−/− mice", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, t. 96, nr 24, ss. 13995–14000, 1999.

[310] P. T. Kuo, N. N. Huang, i D. R. Bassett, „The fatty acid composition of the serum chylomicrons and adipose tissue of children with cystic fibrosis of the pancreas", *J. Pediatr.*, t. 60, nr 3, ss. 394–403, 1962.

[311] P. M. Farrell, E. H. Mischler, M. J. Engle, D. J. Brown, i S.-M. Lau, „Fatty acid abnormalities in cystic fibrosis", *Pediatr. Res.*, t. 19, nr 1, ss. 104–109, 1985.

[312] T. C. Coste, G. Deumer, G. Reychler, P. Lebecque, P. Wallemacq, i T. Leal, „Influence of pancreatic status and sex on polyunsaturated fatty acid profiles in cystic fibrosis", *Clin. Chem.*, t. 54, nr 2, ss. 388–395, 2008.

[313] S. D. Freedman, P. G. Blanco, M. M. Zaman, J. C. Shea, M. Ollero, I. K. Hopper, D. A. Weed, A. Gelrud, M. M. Regan, i M. Laposata, „Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism", *N. Engl. J. Med.*, t. 350, nr 6, ss. 560–569, 2004.

[314] J. Carlstedt-Duke, M. Brönnegård, i B. Strandvik, „Pathological regulation of arachidonic acid release in cystic fibrosis: the putative basic defect", *Proc. Natl. Acad. Sci.*, t. 83, nr 23, ss. 9202–9206, 1986.

[315] A. Christophe i E. Robberecht, „Directed modification instead of normalization of fatty acid patterns in cystic fibrosis: an emerging concept", *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, t. 4, nr 2, ss. 111–113, 2001.

[316] A. W. Van Egmond, M. R. Kosorok, R. Koscik, A. Laxova, i P. M. Farrell, „Effect of linoleic acid intake on growth of infants with cystic fibrosis.", *Am. J. Clin. Nutr.*, t. 63, nr 5, ss. 746–752, 1996.

[317] A. Panchaud, A. Sauty, Y. Kernen, L. A. Decosterd, T. Buclin, O. Boulat, C. Hug, M. Pilet, i M. Roulet, „Biological effects of a dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids supplementation in cystic fibrosis patients: a randomized, crossover placebo-controlled trial", *Clin. Nutr.*, t. 25, nr 3, ss. 418–427, 2006.

[318] S. W. Njoroge, M. Laposata, W. Katrangi, i A. C. Seegmiller, „DHA and EPA reverse cystic fibrosis-related FA abnormalities by suppressing FA desaturase expression and activity", *J. Lipid Res.*, t. 53, nr 2, ss. 257–265, 2012.

[319] C. Keen, A.-C. Olin, S. Eriksson, A. Ekman, A. Lindblad, S. Basu, C. Beermann, i B. Strandvik, „Supplementation with fatty acids influences the airway nitric oxide and inflammatory markers in patients with cystic fibrosis", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, t. 50, nr 5, ss. 537–544, 2010.

[320] G. Wojewodka, J. B. De Sanctis, J. Bernier, J. Bérubé, H. G. Ahlgren, J. Gruber, J. Landry, L. C. Lands, D. Nguyen, i S. Rousseau, „Candidate markers associated with the probability of future pulmonary exacerbations in cystic fibrosis patients", *PloS One*, t. 9, nr 2, s. e88567, 2014.

FORMULARZ ŚWIADOMEJ ZGODY PACJENTA, RODZICÓW LUB PRZEDSTAWICIELA USTAWOWEGO.

Dotyczy pacjenta:

…….....

…… …….....
Imię i nazwisko pacjenta data i miejsce urodzenia

Oświadczam/oświadczamy, że zostaliśmy poinformowani o założeniach, sposobie realizacji i celach wyżej wymienionego projektu badawczego. Przeczytałem/przeczytaliśmy
i zrozumiałem/zrozumieliśmy "Informację dla pacjenta, rodziców lub przedstawiciela ustawowego". Miałem/mieliśmy możliwość zadawania pytań i rozumiałem/ zrozumieliśmy uzyskane odpowiedzi.

Miałem/mieliśmy dość czasu na podjęcie decyzji o przeprowadzeniu badań w tym laboratoryjnych u mnie/naszego dziecka i o zachowaniu pozostałości materiału biologicznego do dalszych badań naukowych nad mukowiscydozą lub innymi chorobami.

Rozumiem/rozumiemy, że zachowana zostanie poufność danych osobowych naszych/naszego dziecka, a dalsze wykorzystanie pozostałości materiału biologicznego będzie pozostawało pod kontrolą Komisji Bioetycznej.

Mam/mamy świadomość, iż udział w badaniach jest dobrowolny, a wyrażona zgoda może być w każdej chwili wycofana. Otrzymałem/otrzymaliśmy kopię formularza "Informacji dla pacjenta, rodziców lub przedstawiciela ustawowego" oraz formularza "Świadomej zgody pacjenta, rodziców lub przedstawiciela ustawowego".

Oświadczam, że wyrażam zgodę na mój udział / wyrażamy zgodę na udział naszego dziecka w wyżej wymienionym projekcie naukowym.

.....
Miejscowość

.....	.....	.....
Nazwisko lekarza proszącego o zgodę	Data	Podpis
.....	.....	.....
Nazwisko pacjenta *	Data	Podpis
.....	.....	.....
Nazwisko rodzica / przedstawiciela ustawowego	Data	Podpis
.....	.....	.....
Nazwisko rodzica / przedstawiciela ustawowego	Data	Podpis

* Podpis pacjenta/dawcy wymagany wyłącznie w przypadku dzieci powyżej 16 roku życia.

Standaryzacja badania BIA

W celu uzyskania miarodajnych wyników badania BIA procedura postępowania podczas bioimpedancji przeprowadzonej u Państwa dziecka musi być wystandaryzowana dlatego szczególnie istotne jest aby zastosowali się Państwo do nastepujących zaleceń:

- Dziecko powinno być minimum 4 godziny od ostatniego posiłku (najlepiej na czczo).
- Zakaz przyjmowania płynów zawierających kofeinę (kawa, mocna herbata, kakao, napoje energetyzujące) w ciągu doby poprzedzającej badanie.
- Zaprzestanie wzmożnego wysiłku fizycznego minimum12 godzin przed badaniem.
- Zakaz nadmiernego i zmniejszonego przyjmowania płynów przed badaniem (Dziecko powinno wypić tyle co zwykle o tej porze dnia!).
- Dziecko powinno oddać mocz 30 minut przed badaniem.
- Proszę poinformować lekarza badającego w przypadku przyjmowania przez dziecko leków moczopędnych.
- Dziewczynki miesiączkujące proszone są o poinformowanie lekarza badającego w którym dniu cyklu mentruacyjnego się znajdują.