

Gdański Uniwersytet Medyczny
Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej

Karolina Śledzińska

**„Rola witaminy D₃ oraz polimorfizmu genu kodującego receptor
witaminy D₃ w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci”**

Praca na stopień doktora nauk medycznych
Promotor: dr hab. n. med. Anna Liberek, prof. nadzw. GUMed

Gdańsk 2016

Pragnę podziękować Wszystkim,
którzy okazali mi pomoc oraz życzliwość
i przyczynili się do powstania niniejszej pracy

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	10
1.1 WPROWADZENIE	10
1.2 WITAMINA D - RYS HISTORYCZNY	10
1.3 WITAMINA D – STRUKTURA	11
1.5 METABOLIZM WITAMINY D	14
1.6 ZAPOTRZEBOWANIE NA WITAMINĘ D	15
1.7 NIEDOBÓR WITAMINY D W POPULACJI OGÓLNEJ	17
1.8 RECEPTOR WITAMINY D	20
1.9 WITAMINA D A IMMUNOLOGIA	22
1.10 WITAMINA D W CHOROBAH PRZEWODU POKARMOWEGO	24
1.11 NIESWOISTE ZAPALENIE JELIT	25
1.11.1 Etiopatogeneza NZJ	25
1.11.1.1 Etiopatogeneza NZJ - czynniki genetyczne	25
1.11.1.2 Etiopatogeneza NZJ - czynniki środowiskowe	26
1.11.1.3 Etiopatogeneza NZJ - czynniki immunologiczne	28
1.11.2 Charakterystyka nieswoistych zapaleń jelit	29
1.11.3 Leczenie NZJ	33
1.12 WITAMINA D A NIESWOISTE ZAPALENIE JELIT	34
1.13 CZYNNIKI RYZYKA NIEDOBORU WITAMINY D U DZIECI Z NIESWOISTYMI ZAPALENIAMI JELIT ..	36
1.14 POLIMORFIZMY GENU RECEPTORA WITAMINY D U PACJENTÓW Z NZJ	37
2. HIPOTEZA BADAWCZA I CEL PRACY	39
2.1 HIPOTEZA BADAWCZA	39
2.2 CEL PRACY	39
3. MATERIAŁ I METODY	40
3.1 CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ I PORÓWNAWCZEJ	40
3.2 METODYKA BADAŃ	43
3.2.1. Badanie lekarskie	43
3.2.2 Pobieranie materiału biologicznego i zakres wykonywanych badań	45
3.2.2.1 Badania laboratoryjne	45
3.2.2.2 Oznaczenie stężenia 25(OH)D w osoczu	45
3.2.2.4 Oznaczenie polimorfizmów genu kodującego receptor witaminy D	46
3.2.2.4.1. Materiały wykorzystane do oznaczenia polimorfizmów w genie <i>VDR</i>	47
3.2.2.4.2 Oznaczenia polimorfizmów w genie <i>VDR</i>	48
3.3 METODY ANALIZY STATYSTYCZNEJ	52
4. WYNIKI	53
4.1 CHARAKTERYSTYKA BADANYCH	53
4.1.1. Aktywność kliniczna choroby	54
4.1.2 Ocena stanu odżywienia pacjentów z NZJ oraz w grupie porównawczej	55
4.1.2.1 Wartości percentyla masy ciała i wzrostu	55
4.1.2.2 Wartość BMI	56
4.1.2.3 Percentyl BMI	57
4.1.2.4 Wskaźnik Cole'a	58
4.1.3 Analiza objawów klinicznych u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania choroby	59
4.1.4 Analiza objawów klinicznych u pacjentów z NZJ w momencie przeprowadzenia badania	59
4.1.5 Złamania kości w wywiadzie	60
4.1.6 Przebyte zabiegi operacyjne	60
4.1.7 Klasyfikacja endoskopowa NZJ	60
4.1.8 Analiza wyników badań laboratoryjnych	61
4.1.9 Ocena stanu odżywienia a stężenie albuminy w surowicy krwi u pacjentów z NZJ	64
4.1.10 Farmakoterapia w momencie przeprowadzenia badania	64
4.1.11 Leki stosowane przez pacjentów przed włączeniem do analizy	65
4.1.12 Pora roku w momencie wykonywania badania	67
4.1.13 Czas od momentu rozpoznania choroby do chwili włączenia do badania	68
4.1.14 Ekspozycja na słońce	68

4.1.15 Aktywność fizyczna	69
4.1.16 Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w analizowanych grupach dzieci	70
4.1.17 Częstość występowania objawów mogących sugerować niedobór witaminy D w analizowanych podgrupach dzieci	71
4.2 STĘŻENIE 25(OH)D W SUROWICY KRWI W ANALIZOWANYCH GRUPACH DZIECI	73
4.2.1 Stężenie witaminy D a płeć i wiek badanych.....	74
4.2.2 Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ z różną aktywnością choroby (NZJ) oraz w porównaniu z grupą kontrolną (porównawczą)	75
4.2.3 Stężenie witaminy D a stan odżywienia u pacjentów z NZJ	76
4.2.4 Stężenie witaminy D a złamania kości w wywiadzie u pacjentów z NZJ	80
4.2.5 Stężenie witaminy D a zabiegi operacyjne w wywiadzie u pacjentów z NZJ	80
4.2.6 Stężenie witaminy D a jej suplementacja.....	81
4.2.7 Stężenie witaminy D a przyjmowane leki w grupie pacjentów z NZJ	82
4.2.7.1 Stężenie witaminy D a stosowane glikokortykosterydy.....	82
4.2.7.2 Stężenie witaminy D a stosowane leki immunosupresyjne.....	84
4.2.7.3 Stężenie witaminy D a stosowane leki biologiczne	85
4.2.8 Stężenie witaminy D a pora roku, w której wykonywano badania	85
4.2.9 Stężenie witaminy D a czas trwania choroby.....	86
4.2.10 Stężenie witaminy D a lokalizacja zmian chorobowych w jelicie u pacjentów z NZJ.....	86
4.2.11 Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce w różnych porach roku	87
4.2.12 Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna badanych w poszczególnych porach roku... ..	88
4.2.13 Stężenie witaminy D a dieta w podgrupach badanych (ChLC, WZJG, K)	89
4.2.14 Analiza dzienniczek dietetycznych	92
4.3 ANALIZA POLIMORFIZMÓW GENU RECEPTORA WITAMINY D.....	95
4.3.1. Częstość występowania poszczególnych genotypów analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w badanych grupach dzieci	95
4.3.2 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a aktywność choroby u pacjentów z NZJ.....	99
4.3.3 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a stężenie witaminy D.....	99
4.3.4 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a wyniki wybranych badań laboratoryjnych .	101
4.3.4.1 Polimorfizm Cdx2 genu <i>VDR</i> a wyniki wybranych badań laboratoryjnych	101
4.3.4.2 Polimorfizm FokI genu <i>VDR</i> a wyniki wybranych badań laboratoryjnych.....	101
4.3.4.3 Polimorfizm BsmI genu <i>VDR</i> a wyniki wybranych badań laboratoryjnych	103
4.3.4.4 Polimorfizm ApaI genu <i>VDR</i> a wyniki wybranych badań laboratoryjnych	104
4.3.4.5 Polimorfizm TaqI genu <i>VDR</i> a wyniki wybranych badań laboratoryjnych.....	105
4.3.5 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a lokalizacja choroby	107
5. STRESZCZENIE WYBRANYCH WYNIKÓW BADAŃ	108
6. DYSKUSJA	118
6.1 WPROWADZENIE.....	118
6.2 CHARAKTERYSTYKA GRUPY BADANEJ	119
6.3 ANALIZA STĘŻENIA WITAMINY D W GRUPIE DZIECI Z NZJ I W GRUPIE PORÓWNAWCZEJ	122
6.3.1 Stężenie witaminy D a aktywność i lokalizacja choroby	125
6.3.2 Stężenie witaminy D a stosowana terapia NZJ	126
6.3.3 Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce	127
6.3.4 Stężenie witaminy D a dieta w analizowanych grupach dzieci.....	129
6.3.5 Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna w analizowanych grupach pacjentów	132
6.3.6 Analiza stężenia witaminy D w grupie porównawczej	132
6.4 POLIMORFIZMY GENU RECEPTORA WITAMINY D.....	135
6.5 PODSUMOWANIE	141
7. WNIOSKI.....	142
8. STRESZCZENIE	144
9. SUMMARY	149
10. PIŚMIENNICTWO	154
11. SPIS TABEL I RYCIN	177

12. ANEKS	181
ZAŁĄCZNIK 1 INFORMACJA O BADANIU I ŚWIADOMA ZGODA BADANEGO	181
ZAŁĄCZNIK 2 ANKIETA - GRUPA BADAWCZA	183
ZAŁĄCZNIK 3 ANKIETA - GRUPA KONTROLNA	186

Wykaz stosowanych skrótów

AF2	- fragment domeny wiążącej ligand (<i>activation function 2</i>)
AIDS	- zespół nabytego niedoboru odporności (<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
AIH	- autoimmunizacyjne zapalenie wątroby (<i>autoimmune hepatitis</i>)
alb	- albumina
ALP	- fosfataza alkaliczna
ASCA	- przeciwciała przeciw <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
BMI	- wskaźnik masy ciała (<i>body mass index</i>)
BS	- błąd standardowy
Ca	- wapń (<i>calcium</i>)
CaBP	- białko wiążące wapń (<i>Calcium binding protein</i>)
CAMP	- gen, którego produktem są białka antybakteryjne - katelicyny (<i>human cathelicidin antimicrobial peptide</i>)
CARD	- gen kodujący wewnątrzkomórkowy receptor rozpoznający wzorce (<i>caspase recruitment domain family, member 15</i>)
CCR	- receptor C-C chemokin (<i>C-C chemokine receptor</i>)
CD	- antygen różnicowania komórkowego (<i>cluster of differentiation</i>)
CDAI	- skala aktywności choroby Leśniowskiego - Crohna (<i>Crohn's Disease Activity Index</i>)
ChLC	- choroba Leśniowskiego - Crohna
CI	- przedział ufności (<i>confidence interval</i>)
CLIA	- metoda chemiluminescencji (<i>The Clinical Laboratory Improvement Amenements</i>)
CRP	- białko C-reaktywne (<i>C-reactive protein</i>)
CV	- współczynnik zmienności (<i>coefficient of variation</i>)
CZD	- Centrum Zdrowia Dziecka
DBD	- domena wiążąca DNA (<i>DNA binding domain</i>)
DBP	- białko wiążące witaminę D (<i>Vitamin D binding protein</i>)
DEFb	- defensyna beta (<i>defensin beta</i>)
DEQUAS	- międzynarodowa organizacja sprawująca nadzór nad kontrolą jakości oznaczeń metabolitów witaminy D (<i>The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites</i>)
DNA	- kwas deoksyrybonukleinowy (<i>deoxyribonucleic acid</i>)

EAR	- szacowane średnie zapotrzebowanie (<i>estimated average requirement</i>)
ECCO	- Europejskie Stowarzyszenie Chorych na Nieswoiste Zapalenie Jelit (<i>European Crohn's and Colitis Organisation</i>)
EDTA	- kwas wersenowy (<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
EIA	- test immunoenzymatyczny (<i>enzyme immunoassay</i>)
ELISA	- test immunoenzymatyczny (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
ESPGHAN	- Europejskie Towarzystwo Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci (<i>The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition</i>)
FGF	- czynnik wzrostu fibroblastów (<i>fibroblast growth factor</i>)
GALT	- tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego (<i>gut-associated lymphoid tissue</i>)
GKS	- glikokortykosteroidy
GWAS	- wszechstronne badania genomu ludzkiego (<i>genome wide association study</i>)
Hb	- hemoglobina
HbA_{1c}	- hemoglobina glikowana
HDL	- lipoproteiny wysokiej gęstości (<i>high density lipoprotein</i>)
HLA	- ludzkie antygeny leukocytarne; ludzkie MHC (<i>human leukocyte antigens</i>)
HLPC	- wysokosprawna chromatografia cieczowa (<i>high-performance liquid chromatography</i>)
Ht	- hematokryt
IBD	- nieswoiste zapalenie jelit (<i>inflammatory bowel disease</i>)
ICAM	- cząsteczka adhezji międzykomórkowej (<i>intercellular adhesion molecule</i>)
IGF1	- insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (<i>insulin-like growth factor 1</i>)
IU	- jednostki międzynarodowe (<i>international units</i>)
K	- grupa kontrolna (porównawcza)
KO	- myszy pozbawione danego genu (<i>knock out</i>)
LBD	- domena wiążąca ligand (<i>ligand binding domain</i>)
LC-MS	- chromatografia cieczowa ze spektrometrią masową (<i>liquid chromatography–mass spectrometry</i>)

LD	- nierównowaga sprzężeń (<i>linkage disequilibrium</i>)
LDL	- lipoproteiny niskiej gęstości (<i>low density lipoprotein</i>)
limf	- limfocyty
MAX	- wartość maksymalna
MED	- minimalna dawka powodująca rumień (<i>minimal erythema dose</i>)
MHC	- główny układ zgodności tkankowej (<i>major histocompatibility complex</i>)
MIN	- wartość minimalna
N	- liczebność grupy
NASPGHAN	- Północnoamerykańskie Towarzystwo Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci (<i>North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition</i>)
neu	- neutrofile
NF-kappaB	- czynnik transkrypcyjny (<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)
NHANES	- centrum badań medycznych (<i>The National Health and Nutrition Examination Survey</i>)
NK	- grupa komórek układu odpornościowego (<i>natural killer</i>)
NLPZ	- niesteroidowe leki przeciwzapalne
NOD2	- gen kodujący wewnątrzkomórkowy receptor rozpoznający wzorce (<i>nucleotide-binding oligomerization domain containing 2</i>)
NZJ	- nieswoiste zapalenie jelit
OB	- odczyn Biernackiego
ODF	- czynnik różnicowania osteoklastów (<i>osteoclast differentiation factor</i>)
OR	- iloraz szans (<i>odds ratio</i>)
OS	- odchylenie standardowe
P	- fosfor (<i>phosphorus</i>)
p	- poziom istotności statystycznej
pANCA	- przeciwciała przeciw antygenom cytoplazmy neutrofilów (<i>anti-neutrophil cytoplasmic antibodies</i>)
PBMC	- jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (<i>peripheral blood mononuclear cells</i>)

PCDAI	- skala aktywności choroby Leśniowskiego- Crohna (<i>Pediatric Crohn's Disease Activity Index</i>)
PCR	- reakcja łańcuchowa polimerazy (<i>polymerase chain reaction</i>)
PLT	- płytki krwi (<i>platelets</i>)
PTH	- parathormon
PTHrP	- peptyd PTH - podobny (<i>parathyroid hormone-related protein</i>)
RANK L	- ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika κ B (<i>Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand</i>)
RR	- ryzyko względne (<i>relative risk</i>)
RXR	- receptor retinoidowy X (<i>retinoid receptor X</i>)
SAP	- alkaliczna fosfataza krewetkowa (<i>shrimp alkaline phosphatase</i>)
SICUS	- ultrasonografia z użyciem doustnego środka kontrastowego (<i>small intestine contrast ultrasonography</i>)
SNP	- polimorfizm pojedynczego nukleotydu (<i>single nucleotide polymorphism</i>)
SPF	- wskaźnik ochrony przeciwsłonecznej (<i>sun protection factor</i>)
SRB	- bakterie redukujące siarczany (<i>sulphur reducing bacteria</i>)
TLR	- receptor Toll-like (<i>Toll-like receptor</i>)
TPA	- tkankowy aktywator plazminogenu (<i>tissue plasminogen activator</i>)
T reg	- limfocyty T regulatorowe
UTR	- obszar mRNA nieulegający translacji, którego funkcje związane są z kontrolą translacji (<i>untranslated region</i>)
UVA	- promieniowanie ultrafioletowe typu A (<i>ultraviolet A</i>)
UVB	- promieniowanie ultrafioletowe typu B (<i>ultraviolet B</i>)
VDR	- receptor witaminy D (<i>vitamin D receptor</i>)
VDRE	- specyficzna sekwencja DNA (<i>Vitamin D response elements</i>)
WBC	- białe krwinki (<i>white blood cells</i>)
WHO	- Światowa Organizacja Zdrowia (<i>World Health Organization</i>)
WZJG	- wrzodziejące zapalenie jelita grubego

1. Wstęp

1.1 Wprowadzenie

Udział witaminy D w regulacji gospodarki wapniowo-fosforanowej i jej powikłań metabolicznych (krzywica, osteoporoza, osteopenia) jest szeroko poznany. Badania ostatnich lat podkreślają możliwy udział witaminy D w patogenezie licznych schorzeń m.in.: chorób autoimmunizacyjnych, nowotworowych, endokrynologicznych, metabolicznych, kardiologiczno-naczyniowych oraz chorób układu pokarmowego [1]. U podstaw plejotropowego działania witaminy D leży obecność receptora witaminy D (VDR; *vitamin D receptor*) na powierzchni niemal wszystkich komórek organizmu ludzkiego, a przede wszystkim na komórkach układu immunologicznego [2]. Badania populacyjne wykazujące powszechny niedobór witaminy D nie tylko u osób chorych, ale również w populacji osób zdrowych, doprowadziły do aktualizacji dotychczasowych zaleceń dotyczących suplementacji witaminy D dla różnych grup wiekowych oraz były bodźcem do wszechstronnych badań analizujących plejotropowe działanie witaminy D [3].

1.2 Witamina D - rys historyczny

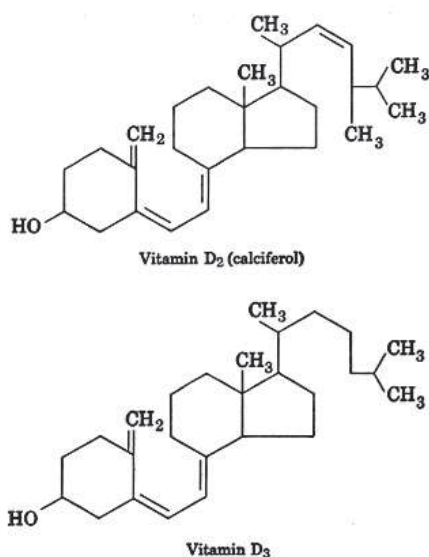
Pierwsze udokumentowane dane na temat krzywicy, choroby, której przyczyną jest niedobór witaminy D, sięgają roku 1650, kiedy to Glisson, DeBoot i Whistler opisali chorobę kości manifestującą się licznymi deformacjami szkieletu oraz osłabioną siłą mięśni u dzieci zamieszkujących uprzemysłowane miasta Wielkiej Brytanii i północnej Europy [4]. Jako pierwszy, korzystny wpływ promieniowania słonecznego ("kąpiele słonecznych") w zapobieganiu i leczeniu krzywicy, udokumentował Jędrzej Śniadecki w 1822 roku [5]. Mimo, iż tran (olej z wątroby dorsza) był stosowany przez stulecia, dopiero w 1918 roku Mellanby przeprowadzając eksperyment medyczny na psach rasy beagle, udowodnił jego działanie przeciwkrzywiczne [6]. Substytuował zwierzętom z krzywicą tran uzyskując w stosunkowo dość krótkim czasie poprawę i ustąpienie objawów choroby. W 1922 roku McCollum w swoich doświadczeniach poprzez napowietrzanie (utlenowanie) i naświetlanie tranu doprowadził do rozkładu substancji (witaminy A) przeciwdziałającej schorzeniom narządu wzroku, utrzymując działanie przeciwkrzywiczne tranu - tym samym udowadniając, iż to nie witamina A jest składową tranu zapobiegającą deformacjom kości [7].

W kolejnych latach kontynuowano badania nad wyodrębnieniem „czynnika przeciwrzywiczego”. Windaus i wsp. poprzez destylację frakcyjną uzyskali substancję nazwaną witaminą D₁, która była mieszaniną ergokalcyferolu i nieaktywnych metabolitów (lumisterolu) [8]. Dopiero po zastosowaniu lamp o szerokim zakresie promieniowania oraz wdrożeniu różnych metod izolacji otrzymano „czystą” witaminę D₂, a w roku 1936 opisano po raz pierwszy jej strukturę chemiczną [9]. W tym samym roku badacze z Getyngi uzyskali 7-dehydrocholesterol z cholesterolu i poprzez naświetlanie tego związku doprowadzili do otrzymania witaminy D₃ - cholekalcyferolu [10].

Ukoronowaniem dotychczasowych badań w tej dziedzinie była nagroda Nobla z chemii dla profesora Windaus za "pracę nad budową steroli oraz ich związkami z witaminami", w tym witaminą D [11]. Aktywny metabolit witaminy D, 25-hydroksycholekalcyferol - 25(OH)D₃ wyizolowano dopiero w 1968 roku [12].

1.3 Witamina D – struktura

Witamina D należy do heterogennej grupy związków rozpuszczalnych w tłuszczach. Wyróżniamy witaminę D₂ (ergokalcyferol) pochodzenia roślinnego oraz pochodzenia zwierzęcego - witaminę D₃ (cholekalcyferol). Między tymi dwiema postaciami istnieją różnice w budowie bocznych łańcuchów; w strukturze witaminy D₂ występuje podwójne wiązanie pomiędzy węglem C₂₂ a C₂₃, (w przypadku witaminy D₃ wiązanie pojedyncze), ponadto w strukturze witaminy D₃ brak jest grupy metylowej przy C₂₄ (rycina 1) [13].



Rycina 1. Struktura witaminy D₂ i witaminy D₃ [13]

1.4 Źródła witaminy D

Głównym źródłem witaminy D jest jej synteza skórna pod wpływem działania promieni słonecznych oraz jej podaż z pokarmem. Zawartość witaminy D wyraża się w międzynarodowych jednostkach IU (10 mikrogramów=400 IU) [14].

W skórze z 7-dehydrocholesterolu pod wpływem promieniowania UVB o długości fal 290-315 nm powstaje prewitamina D₃, która jest niestabilna termodynamicznie i szybko ulega izomeryzacji do bardziej trwałej formy - witaminy D₃. Reakcja ta zachodzi głównie w trakcie pierwszych 30 minut naświetlania, w następnym etapie powstają nieaktywne metabolity: lumisterol, tachysterol czy toxisterole, dlatego też nadmierna ekspozycja na światło słoneczne nie powoduje objawów zatrucia witaminą D [15].

Skórna produkcja witaminy D zależy od wielu czynników: wieku, masy ciała (wskaźnik BMI - *Body Mass Index*), ilości podskórnej tkanki tłuszczowej, ekspozycji na słońce części ciała, czasu trwania ekspozycji, pigmentacji skóry, korzystania z solarium, stopnia nasłonecznienia, szerokości geograficznej, pory roku, grubości pokrywy chmur oraz stopnia zanieczyszczenia powietrza [16] [17] [18] [19]. Stosowanie kremów z filtrem ochronnym SPF 8 redukuje skórny syntezę witaminy D o co najmniej 95%, a z filtrem ochronnym SPF 15 niemal w 100% [20]. Ekspozycja całej powierzchni ciała na promieniowanie UVB powodująca niewielkie zaczerwienienie skóry po upływie 24 godzin odpowiada jednej dawce rumieniowej (1 MED, *minimal erythema dose*) i umożliwia syntezę skórny witaminy D₃ w ilości 10 000 - 25 000 IU [21]. Najwyższa synteza witaminy D₃ odbywa się w południe kiedy to stosunek UVB do UVA jest największy (wiosna, lato, jesień). Warstwa ozonowa częściowo pochłania promieniowanie UVB zmniejszając syntezę skórny głównie w chłodniejszych porach roku oraz w lokalizacjach powyżej 35 równoleżnika na półkuli północnej, gdzie promienie słoneczne padają na ziemię pod kątem ostrym [22]. Dla zapewnienia optymalnej dziennej dawki witaminy D, mieszkańcy Europy Środkowej powinni ekspozować około 18% powierzchni ciała (np. przedramiona i częściowo nogi), bez stosowania filtrów ochronnych, 2-3 razy w tygodniu przez minimum 15 minut w godzinach między 10-15 w miesiącach od kwietnia do września [3]. W Polsce synteza skórny byłaby efektywna przy ekspozycji od 3 godzin/dobę w marcu i wrześniu do 9 godzin/dobę w czerwcu i lipcu [23].

Ekspozycja na promieniowanie słoneczne u dzieci, mimo stymulowania syntezy witaminy D₃ w skórze, budzi liczne kontrowersje; nadmierne promieniowanie słoneczne wiąże się bowiem z ryzykiem rozwoju nowotworów skóry [14].

Badania wskazują, że zwiększone ryzyko zachorowania na raka podstawnokomórkowego oraz czerniaka skóry wiąże się prawdopodobnie z promieniowaniem UVA, natomiast na raka kolczystokomórkowego z promieniowaniem UVB [24] [25]. Wyniki badań sugerują większe ryzyko nowotworu związane z okresowym, nawet krótkotrwałym intensywnym wakacyjnym nasłonecznianiem w porównaniu do protekcyjnej, codziennej, regularnej kilkunastominutowej ekspozycji na działanie promieni słonecznych [15] [25]. Amerykańska Akademia Pediatrii zaleca, aby dzieci w wieku do 6 miesięcy nie były wystawiane bezpośrednio na słońce [26].

Alternatywnym źródłem promieniowania UVB mogą być specjalne lampy przydatne u osób z nieprawidłową podażą doustną witaminy D, bądź zaburzeniami jej wchłaniania. W przypadku gdy synteza skórna jest niedostateczna udowodniono, iż terapia przy użyciu wspomnianych lamp powoduje wzrost stężenia witaminy D we krwi w tej grupie osób [27].

Znaczącym źródłem witaminy D dla organizmu jest żywność. Zróżnicowana dieta bogata w tłuste ryby (makrela, łosoś, sardynki), tran, jaja kurze może pokryć dzienne zapotrzebowanie na tę witaminę, jednak zwykle podaż witaminy D z diety jest niewystarczająca [28]. Coraz częściej różnorodne pokarmy są wzbogacane w witaminę D - mieszanki mleczne, kaszki i mleka modyfikowane, płatki śniadaniowe, a także - głównie w Stanach Zjednoczonych - chleb, soki owocowe czy mleko spożywcze [29] [30].

W związku z tym, że witamina D wpływa na ilość wchłanianego wapnia z przewodu pokarmowego, w przypadku jej niedoboru wchłaniane jest jedynie 10-15% tego pierwiastka spożywanego z pokarmem. Przy prawidłowej ilości witaminy D w ustroju wchłanianie zwiększa się do 30%, a podczas ciąży, laktacji czy intensywnego wzrostu organizmu nawet do 80% [31].

Przyswajanie witaminy D jest ściśle związane z zawartością tłuszczów w diecie. Wstępny proces wchłaniania lipidów - ich emulsyfikacja, czyli rozdrobnienie - rozpoczyna się już w żołądku pod wpływem białek, kwasów tłuszczowych oraz kwasów żółciowych zarzucanych wstecznie z dwunastnicy. Proces ten jest zdecydowanie bardziej efektywny w dwunastnicy i jelicie cienkim, dzięki udziałowi

lecycyny. W następnym etapie powstają micelle, których zewnętrzna otoczka składa się z kwasów żółciowych, a wewnątrz znajdują się witaminy rozpuszczalne w tłuszczach (A, D, E, K) oraz cholesterol. Po kontakcie miceli z błoną komórkową kosmka jelitowego, witaminy rozpuszczalne w tłuszczach mają możliwość przejścia do wnętrza komórki jelitowej. Następnie poprzez formację chylomikronów, przy udziale lizolecycyny, witamina D przedostaje się poprzez układ chłonny do krążenia dużego [32].

1.5 Metabolizm witaminy D

Witamina D po przeniknięciu do krążenia ulega połączeniu z białkiem nośnikowym (DBP – *vitamin D binding protein*). Kompleks witamina D-DBP dociera do wątroby, gdzie następuje proces hydroksylacji do postaci 25(OH)D, której to stężenie najlepiej odzwierciedla ustrojowe zasoby witaminy D. Enzym 25-hydroksylaza należy do nadrodziny cytochromu P450 i jest aktywny zarówno w mitochondriach (CYP27A1), jak i w mikrosomach (CYP3A4, CYP32R1) hepatocytów i ulega autoregulacji pod wpływem produktu tej reakcji oraz przy udziale 1,25(OH)₂D₃ [32] [33].

Kolejne przemiany witaminy D zachodzą w mitochondriach komórek proksymalnych cewek nerkowych. Witamina 25(OH)D metabolizowana jest do jej aktywnej postaci - 1,25(OH)₂D lub nieaktywnego metabolitu - 24,25(OH)₂D w zależności od zaopatrzenia ustroju w witaminę D oraz od stężeń wapnia i fosforu we krwi [32]. Największy aktywizujący wpływ na proces 1-alfa-hydroksylacji wykazuje parathormon (PTH), ale również insulina, estrogeny oraz obniżone stężenie wapnia lub fosforu we krwi [32].

Do inaktywacji produktów metabolizmu witaminy D dochodzi poprzez sprzężanie z kwasem glukuronowym i wydalanie do żółci lub sprzężanie z kwasem siarkowym i wydalanie z moczem. Kwas kalcitronowy jest kolejnym produktem katabolizmu powstającym poprzez syntezę 1,24,25(OH)₃D, a następnie oksydatywne rozszczepienie łańcucha bocznego [32].

Aktywna postać witaminy D - 1,25(OH)₂D powstaje również pozanerkowo. Badania przeprowadzone przez Stumpf i wsp. w roku 1979 wykazały obecność 1,25(OH)₂D znakowanej ³H w m.in. komórkach wysepek trzustkowych, keratynocytach, komórkach układu nerwowego, promielocytach, makrofagach i limfocytach T [34]. Aktywna postać witaminy D wiąże się z receptorem witaminy D (VDR, *Vitamin D*

Receptor), który jest obecny na niemal wszystkich komórkach organizmu (skóra, gonady, prostata, gruczoł piersiowy, serce, mózg i komórki jednojądrzaste), wywierając wpływ na regulację proliferacji i różnicowania się komórek oraz działając immunomodulacyjnie [34] [35]. Działania te określane są jako nieklasyczne funkcje witaminy D i mogą zachodzić wewnątrz komórki (autokrynnie) lub lokalnie (parakrynnie). Tanaka i wsp. jako jedni z pierwszych wykazali *in vitro* wpływ 1,25(OH)₂D na zahamowanie proliferacji linii komórek białaczkowych mysich i ludzkich oraz ich stymulację do postaci dojrzałych makrofagów [36]. Niestety próby zastosowania tej formy terapii *in vivo* nie powiodły się. Kolejne badania nad wpływem aktywnej postaci witaminy D na proliferację i różnicowanie się komórek przeprowadzono u chorych na łuszczycę. W keratynocytach posiadających receptor VD po ekspozycji na 1,25(OH)₂D dochodziło do zahamowania proliferacji i indukcji procesu różnicowania się [37]. Odkrycie to znalazło zastosowanie w terapii łuszczycy analogami witaminy D [38]. Powyższe spostrzeżenia były jednymi z pierwszych oceniających plejotropowe funkcje witaminy D; szczególnie jej działanie antyproliferacyjne wzbudziło zainteresowanie naukowców zajmujących się tematyką onkologiczną. Schwartz i wsp. jako pierwsi udowodnili, iż komórki raka prostaty wykazywały aktywność 1-alfa-hydroksylazy [39]. Możliwość przekształcania 25(OH)D do jej aktywnej postaci potwierdzono również w wielu innych tkankach zdrowych, jak i zmienionych nowotworowo (komórki raka jelita grubego, płuc, piersi) [40] [41] [42].

1.6 Zapotrzebowanie na witaminę D

W Polsce dotychczas obowiązywały zalecenia Krajowego Konsultanta ds. Pediatrii opracowane przez Zespół Ekspertów w roku 2009, dotyczące profilaktyki niedoboru witaminy D. W zależności od wieku, pory roku i sposobu karmienia ustalono odpowiednie dzienne zapotrzebowanie na witaminę D. Powyższe rekomendacje przedstawiono w tabeli 1 [43].

Tabela 1. Polskie zalecenia dotyczące profilaktyki niedoboru witaminy D (2009r.) [43]

Wiek	Karmione piersią	Karmione mlekiem modyfikowanym / dieta ogólna
Noworodki urodzone przedwcześnie	400-800 IU/d	400-800 IU/d z uwzględnieniem podaży witaminy D z diety i/lub preparatów farmaceutycznych
Noworodki donoszone Niemowlęta	400 IU/d	400 IU/d z uwzględnieniem podaży witaminy D z diety i/lub preparatów farmaceutycznych
Dzieci 1-18 rok życia	400 IU/d od października do marca lub w miesiącach letnich gdy nie jest zapewniona dostateczna synteza skórna	400 IU/d z uwzględnieniem podaży witaminy D z diety i/lub preparatów farmaceutycznych od października do marca lub w miesiącach letnich gdy nie jest zapewniona dostateczna synteza skórna

W 2013 roku opublikowano zaktualizowane wytyczne dotyczące suplementacji witaminą D dla populacji Europy Środkowej [3]. Zwrócono szczególną uwagę na szeroki zakres badań dotyczących plejotropowego działania witaminy D oraz powszechnie występującego jej niedoboru w populacji zarówno dziecięcej, jak i osób dorosłych. Zaproponowano zwiększenie suplementowanej dawki, wydłużenie okresu jej podawania oraz wyodrębniono grupy ryzyka wymagające wyższych dawek witaminy D (tabela 2 i 3). W związku z długim okresem półtrwania ($T_{1/2}$ 4 - 6 tygodni), suplementacja witaminy D może odbywać się w różnych schematach dawkowania - od codziennego do kilku razy w miesiącu/kwartale. Grupa ekspertów określiła także dopuszczalne górne granice dziennej dawki witaminy D dla poszczególnych grup wiekowych: noworodki i niemowlęta - 1000 IU, dzieci w wieku 1-10 lat - 2000 IU, dzieci i młodzież w wieku 11-18 lat - 4000 IU [3].

Tabela 2. Rekomendowane dawki witaminy D w populacji ogólnej [3]

Noworodki i niemowlęta	400 IU/d do wieku 6 miesięcy, 400-600 IU/d dla starszych niemowląt w zależności od podaży witaminy D z dietą
Dzieci i młodzież w wieku 1-18 lat	600-1000 IU/d w zależności od masy ciała pomiędzy wrześniem a kwietniem lub przez cały rok jeśli synteza skórna w miesiącach letnich jest nieadekwatna

Tabela 3. Rekomendowane dawki witaminy D w grupach ryzyka niedoboru witaminy D [3]

Dzieci urodzone przedwcześnie	400 - 800 IU/d aż do ukończenia płodowego wieku 40 tygodni
Dzieci otyłe (BMI >90 percentyla dla wieku i płci)	1200-2000 IU/d w zależności od stopnia otyłości pomiędzy wrześniem a kwietniem lub przez cały rok jeśli synteza skórna w miesiącach letnich jest nieadekwatna

Wg raportu ESPGHAN (*The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*) właściwa suplementacja witaminy D w niemowlęctwie zapobiega rozwojowi krzywicy oraz osteomalacji [44]. U dzieci, u których stwierdzono niedobór witaminy D jej suplementacja może mieć wpływ na poprawę mineralnej gęstości kości, jednakże u dzieci z prawidłowym jej stężeniem we krwi nie obserwuje się jej pozytywnego działania na stan zdrowia kości czy prawidłowy wzrost dziecka. W publikacji podkreślono również fakt, iż dotychczas nie uzyskano wystarczających dowodów świadczących o korzystnym wpływie suplementacji witaminą D na funkcję mięśni u niemowląt, dzieci i młodzieży czy też ochronę przed infekcjami, zapobieganie alergii, cukrzycy typu 1, chorobom układu sercowo-naczyniowego. W opisanych rekomendacjach zaleca się suplementację witaminy D w ilości 400 IU/dobę niemowlętom, a u starszych dzieci należy opracować lokalne wytyczne uwzględniające grupy ryzyka (wyłącznie karmienie piersią, ciemna karnacja, otyłość) [44].

1.7 Niedobór witaminy D w populacji ogólnej

Uważa się, że najprecyzyjniej zasoby witaminy D w organizmie definiuje stężenie 25(OH)D we krwi, które zależy jedynie od jej syntezy skórnej i podaży z pokarmem. Na stężenie aktywnej formy witaminy D - 1,25(OH)₂D ma wpływ wiele innych czynników regulatorowych. Niedobór 25(OH)D może powodować wzrost stężenia parathormonu i w rezultacie wzrost stężenia 1,25(OH)₂D, co może prowadzić do błędnych wniosków dotyczących zasobów witaminy D w ustroju [31] [45]. Na syntezę 1,25(OH)₂D mają wpływ także inne hormony (kortyzol, estradiol), jak również stężenie wapnia, fosforu i innych czynników (np. FGF 23) [46]. Kolejnym powodem pomiaru stężenia 25(OH)D we krwi jest jej 1000 - krotnie wyższe stężenie w porównaniu do 1,25(OH)₂D oraz dłuższy okres półtrwania [45].

Do najbardziej popularnych metod oznaczania stężenia 25(OH)D w surowicy należą metody immunologiczne - radioimmunologiczne i immunochemiczne (elektrochemiluminescencji CLIA, immunoenzymatyczne - ELISA, EIA) [47]. Obecność dwóch postaci witaminy D - 25(OH)D₂ i 25(OH)D₃ o różnej strukturze i innym powinowactwie do przeciwciał sprawia, iż stężenie 25(OH)D faktycznie zależy od stosunku 25(OH)D₃ do 25(OH)D₂ oraz źródła przeciwciał użytych w danej metodzie [48]. Do oznaczenia stężenia witaminy D wykorzystuje się również metody immunochemiczne polegające na zastosowaniu do analizy białka wiążącego witaminę D (DBP) [48]. Ważnym ograniczeniem metod immunochemicznych są trudności w wykryciu C-3 epimeru 25(OH)D - związku obecnego w stosunkowo dużej ilości u niemowląt i dzieci (nawet do 61% stężenia 25(OH)D) [49]. Złotym standardem oznaczania stężenia witaminy D jest metoda spektrometrii masowej sprzężonej z chromatografią cieczową (LC-MS) oraz wysokosprawną chromatografią cieczową (HLPC). Nad międzynarodową kontrolą jakości oznaczeń metabolitów witaminy D nadzór sprawuje organizacja DEQUAS (*The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites*) [50].

Dotychczas przeprowadzone badania nie pozwalają na jednoznaczne ustalenie referencyjnego stężenia 25(OH)D we krwi. Wskazują one, że stężenie 25(OH)D poniżej 20 ng/ml powoduje wtórną nadczynność przytarczyc i w rezultacie przyspieszoną resorpcję kości u dorosłych, a poziom powyżej 32 ng/ml wydaje się być optymalny dla funkcjonowania przytarczyc oraz maksymalnego wchłaniania wapnia w jelicie [51]. Natomiast Norman i wsp. stwierdzili, że 1-alfa-hydroksylaza wykazuje 50% aktywności enzymatycznej przy stężeniu 25(OH)D równym 40 ng/ml, a 100% aktywności przy poziomie 100 ng/ml [52]. Badanie przeprowadzone przez Priemel i wsp. poddające analizie wyniki 675 biopsji talerza kości biodrowej wraz z równoczesną oceną stężenia 25(OH)D we krwi nie wykazało w badaniu histomorfometrycznym cech osteomalacji przy stężeniu witaminy D powyżej 30 ng/ml, podczas gdy przy wartościach w przedziale 21-29 ng/ml już u 21% dorosłych stwierdzono pewne defekty mineralizacji kości [53]. Analiza badań przekrojowych oraz epidemiologicznych obejmujących plejotropowe działanie witaminy D (układ kostno-mięśniowy, immunologiczny, krążenia, wpływ na płodność, ciążę, demencję, nowotwory, śmiertelność) wykazała możliwe działanie prewencyjne witaminy D przy stężeniu 25(OH)D w surowicy w zakresie 30-50 ng/ml [1]. Wyniki te budzą jednak kontrowersje – jednoznaczne określenie

czy deficyt witaminy D jest czynnikiem ryzyka czy czynnikiem jedynie współtowarzyszącym jest trudne i wymaga przeprowadzenia dalszych badań z randomizacją.

Biorąc pod uwagę powyższe dowody eksperci opracowujący wytyczne suplementacji witaminy D dla Europy Środkowej jako referencyjne stężenie 25(OH)D w surowicy określili wartości w przedziale 30-50 ng/ml (75-125 nmol/L), jako niedobór wymagający dawek leczniczych witaminy D zdefiniowano stężenie <20 ng/ml (50nmol/L), natomiast wartości w granicach 20-30 ng/ml (50-75nmol/L) uznano jako suboptymalne wymagające nieznaczного zwiększenia dziennej dawki suplementacji [3]. W przypadku stężenia witaminy D powyżej 100 ng/ml (250 nmol/L) zalecono zmniejszenie dawki lub zaprzestanie jej suplementacji, a poziom >200 ng/ml (500 nmol/L) określono jako toksyczny dla organizmu [3].

Doniesienia ostatnich lat sugerują powszechny niedobór witaminy D w populacji zarówno dziecięcej jak i u osób dorosłych. Potwierdzeniem jest szeroka analiza stężenia witaminy D przeprowadzona u 168 389 osób z 44 krajów z całego świata, gdzie niedobór witaminy D, określony jako stężenie 25(OH)D poniżej 30 ng/ml, stwierdzono u zdecydowanej większości badanych (88,1%), a u 37,3% uczestników stężenie 25(OH)D wynosiło poniżej 20 ng/ml, natomiast u 6,7% badanych wartości 25(OH)D były poniżej 10 ng/ml [54]. W populacji polskiej dotychczasowe obserwacje przeprowadzone w grupie 2687 osób dorosłych wykazały średnie stężenie 25(OH)D równe 17,7 ng/ml, a u 90% badanych stwierdzono poziom witaminy D poniżej 30 ng/ml [55]. Powszechny niedobór witaminy D występuje również u dzieci i może dotyczyć nawet do 85% nastolatków. Jedynie w niemowlęctwie stężenie witaminy D u większości dzieci było prawidłowe co można tłumaczyć przestrzeganiem zaleceń suplementacji przez opiekunów [56].

Dwie główne przyczyny niedoboru witaminy D to obniżona synteza skórna oraz niedostateczna podaż z pokarmem [3].

Upośledzona synteza skórna może mieć związek z ciemniejszą karnacją skóry, podeszłym wiekiem, szerokością geograficzną, znacznym stopniem zachmurzenia, zanieczyszczeniem powietrza, czy stosowaniem kremów z wysokimi filtrami [18] [20] [57] [58] [59]. W Kanadzie opisano przypadek dziecka z biochemicznymi i radiologicznymi wykładnikami krzywicy, powstałej prawdopodobnie na skutek nadmiernej aplikacji kremu z filtrem 30 [60]. Zaburzenia wchłaniania witaminy D w jelicie mogą być następstwem: diety ubogiej w witaminę D (wyłącznie karmienie

piersią), stosowaniem diet eliminacyjnych (alergia na białko mleka krowiego, nietolerancja laktozy, zaburzenia odżywiania, całkowite żywienie pozajelitowe) czy upośledzonego trawienia i wchłaniania (celiakia, mukowiscydoza, nieswoiste zapalenia jelit, niewydolność wątroby, cholestaza) [51][61] [62] [63] [64] [65] [66].

Do grup ryzyka niedoboru witaminy D należą również osoby z zaburzeniami metabolicznymi (nadczytność przytarczyc, otyłość), stosujące określone leki (glikokortykosteroidy, leki przeciwpadaczkowe, przeciwwirusowe, ketokonazol, izoniazyd, rifampicyna), z przewlekłą niewydolnością nerek, z przewlekłą cholestazą, z chorobami ziarniniakowymi (gruźlica, sarkoidoza), chorobami genetycznymi (krzywica typu I, II, III), chorobami układu krążenia, przewlekłymi infekcjami, chorobami autoimmunizacyjnymi, alergicznymi, nowotworami czy z AIDS [3] [67] [68] [69] [70] [71] [72] [73].

W ramach leczenia niedoboru witaminy D stosuje się zwiększone dawki witaminy D przez okres od 1 do 3 miesięcy kierując się stopniem niedoboru, zalecane dawki różnią się w zależności od wieku. U noworodków dzienna dawka terapeutyczna witaminy D wynosi 1000 IU, u niemowląt 1000-3000 IU, a u dzieci do 18 roku życia w zależności od masy ciała 3000-5000 IU [3].

Po uzyskaniu pożądanego stężenia 25(OH)D we krwi należy stosować odpowiednią do wieku i masy ciała suplementację preparatem witaminy D z 6-miesięcznymi kontrolnymi badaniami stężenia 25(OH)D w surowicy krwi [3].

1.8 Receptor witaminy D

Receptor witaminy D należy do grupy jądrowych czynników transkrypcyjnych, do której zaliczane są również receptory hormonów steroidowych oraz tarczycowych. Receptor VD składa się z 427 reszt aminokwasowych, jego masa cząsteczkowa wynosi 48,3 kDa [74] [75] [76]. Struktura receptora utworzona jest z konserwatywnej domeny wiążącej DNA (DBD; *DNA binding domain*) oraz domeny wiążącej ligand (LBD; *ligand binding domain*), która zawiera domenę AF2 (*activation function*) pozwalającą na aktywację transkrypcji. VDR znajduje się zarówno w cytoplazmie jak i w jądrze komórkowym, jednakże w przeważającej większości jest białkiem jądrowym [77] [78].

Połączenie 1,25(OH)₂D z domeną wiążącą ligand receptora witaminy D prowadzi do heterodimeryzacji z kwasem 9-cis retinowym (RXR, retinoidowym

receptorem X), a następnie powiązania powstałego kompleksu ze specyficzną sekwencją DNA, zwaną VDRE (*Vitamin D Response Elements*) [79].

Struktura krystaliczna domeny LBD receptora VD zbudowana jest, podobnie jak w innych receptorach jądrowych, z serii alfa helis. W obecności 1,25(OH)₂D helisa 12, odpowiadająca domenie AF2, ulega aktywacji rekrutując białka koregulacyjne konieczne do aktywacji transkrypcji [80].

Poznanie dalszych szczegółów budowy struktury krystalicznej receptora witaminy D na poziomie molekularnym oraz zależności między ligandami budzi nadzieję na opracowanie w przyszłości analogów witaminy D, które nie będą wykazywały działania kalcemicznego i mogą mieć zastosowanie w terapii krzywicy odpornej na witaminę D przebiegającej z mutacją receptora VD [81].

Badacze wykazali, iż VDR funkcjonuje również jako receptor dla kwasu litocholowego, jednego z kwasów żółciowych będącego potencjalnym kancerogenem jelitowym. Poprzez aktywację receptora VD dochodzi do ekspresji cytochromu CYP3A, dzięki któremu zachodzi proces detoksyfikacji kwasu litocholowego w wątrobie i jelicie. Mechanizm ten może tłumaczyć działanie przeciwnowotworowe witaminy D w jelicie [82] [83] [84].

Jak wspomniano receptor witaminy D występuje powszechnie w niemal wszystkich jądrzastych komórkach organizmu. Niewielką ekspresję lub jej brak wykazano jedynie w erytrocytach, wysoce zróżnicowanych komórkach nerwowych kory mózgowej i dojrzałych komórkach mięśni poprzecznie prążkowanych [85].

Aktywna postać witaminy D po związaniu się z receptorem wywołuje bezpośrednie działanie genomowe poprzez regulację ekspresji około 300 genów związanych z VDR, co stanowi około 3% ludzkiego genomu [86].

Gen kodujący białko receptora witaminy D znajduje się na długim ramieniu chromosomu 12 (12q13.1). Składa się z 11 eksonów, eksony 2 i 3 są zaangażowane w wiązanie DNA, eksony 7, 8 oraz 9 uczestniczą w wiązaniu z witaminą D [87].

Biorąc pod uwagę częstość występowania polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*) w całym genomie ludzkim, można spodziewać się więcej niż 100 polimorfizmów w obrębie genu *VDR*. Dotyczy to również istotnych funkcjonalnie polimorfizmów dotyczących np. regionu promotorowego [86].

Do polimorfizmów funkcjonalnych genu *VDR* należą polimorfizmy pojedynczego nukleotydu w pobliżu końca 3'UTR rozpoznawane przez endonukleazy - ApaI, BsmI

i TaqI. Polimorfizmy BsmI (G/A) (rs731236) oraz ApaI (G/T) (rs7975232) umiejscowione są w intronie między 8 a 9 eksonem, a polimorfizm TaqI (T/C) (rs731236) zlokalizowany w eksonie 9. Mogą one wpływać na stabilność mRNA, a w rezultacie na translację mRNA genu *VDR* [86]. Kolejnym polimorfizmem funkcjonalnym jest polimorfizm FokI (C/T) (rs10735810) zlokalizowany w eksonie 2, którego produkt wykazuje większą aktywność biologiczną [86].

Opisano ponadto polimorfizm genu *VDR* - Cdx2 (A/G), prowadzący do obniżonej ekspresji *VDR* w jelitach i w konsekwencji do zmniejszonej absorpcji wapnia [88].

Analiza polimorfizmów genu *VDR* dotyczy głównie ich związku z chorobami metabolicznymi kości, a wyniki dotychczasowych badań oceniających związek polimorfizmów z gęstością mineralną kości, ryzykiem złamań czy osteoporozą nie są jednoznaczne [89] [90]. Prowadzono także badania nad ewentualnym związkiem polimorfizmów genu *VDR* z m.in. łuszczycą, chorobą Gravesa, gruźlicą, cukrzycą typu 1 i 2, stwardnieniem rozsianym, nadczynnością przytarczyc, astmą, schorzeniami wątroby, ryzykiem nowotworów i nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) [91] [92] [93] [94] [95] [96] [97].

1.9 Witamina D a immunologia

Witamina D jest ważnym regulatorem odpowiedzi immunologicznej, czego dowodem jest m.in. obecność receptora VD na komórkach układu immunologicznego - limfocytach T i B, monocytach oraz komórkach prezentujących antygen takich jak makrofagi czy komórki dendrytyczne [98].

Już w latach 80-tych ubiegłego wieku Adams i wsp. wykazali, że hiperkalcemia w przebiegu sarkoidozy jest spowodowana pozanerkową produkcją aktywnej postaci witaminy D. Makrofagi wyizolowane z ziarniniaków sarkoidalnych wykazywały bowiem zwiększoną aktywność enzymu CYP27B1 przekształcając 25(OH)D do 1,25(OH)₂D. Proces ten był stymulowany przez interferon gamma oraz hamowany przez glikokortykosteroidy, obserwacje te znalazły zastosowanie w terapii sarkoidozy [99].

Kolejnym dowodem udziału witaminy D w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej jest badanie przeprowadzone przez Liu i wsp. wykazujące, że aktywacja receptorów *Toll-like* (TLR) na ludzkich makrofagach stymulowała ekspresję receptora witaminy D oraz genów 1-alfa-hydroksylazy prowadząc do produkcji białek antybakteryjnych - katelicydyn [100]. Białka te są kodowane

przez gen *CAMP* (*human cathelicidin antimicrobial peptide*). Wykazuje on ekspresję nie tylko w monocytach, neutrofilach, komórkach dendrytycznych, limfocytach i komórkach NK (*Natural Killer*), ale także w komórkach nabłonka skóry, układu oddechowego i przewodu pokarmowego. Produkty genu *CAMP* wykazują szerokie działanie przeciwbakteryjne, zarówno przeciw bakteriom Gram dodatnim, jak i Gram ujemnym [101].

Wykazano również, że $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ stymuluje ekspresję receptorów rozpoznających wzorce genu *NOD2/CARD1/IBD1* w monocytach i komórkach nabłonka. Aktywacja genu *NOD2* poprzez agonistę - dipeptyd muramylowy (produkt rozpadu bakteryjnego) stymuluje funkcję czynnika transkrypcyjnego NF-kappaB (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), który indukuje ekspresję genu kodującego białko antybakteryjne - defensynę b2 (*DEFB2/HBD2*) [102].

Witamina D stymuluje immunologiczną odpowiedź nieswoistą, jej działanie w przypadku odpowiedzi swoistej jest przeciwne, jest jej supresorem. Efektorem aktywnej postaci witaminy D są komórki CD4+, do których należą między innymi limfocyty Th1 oraz Th2. Limfocyty Th1 wpływają na odpowiedź komórkową i wydzielają w głównej mierze IL-2, IFN gamma i TNF alfa, natomiast limfocyty Th2 są źródłem głównie IL-4 i IL-10 oraz hamują działanie limfocytów Th1 [74]. Lemire i wsp. wykazali hamujący wpływ $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na komórki Th1 oraz produkcję IL-2, IFN gamma i TNF alfa również na poziomie transkrypcyjnym [103] [104]. Witamina D stymuluje ponadto wydzielanie cytokin przez limfocyty Th2, przez co wywiera działanie hamujące na limfocyty Th1 oraz odpowiedź komórkową [105]. Aktywna postać witaminy D wpływa także hamująco na limfocyty Th 17 wydzielające IL-17, która jest odpowiedzialna za szybki rozwój reakcji zapalnej i ma udział w patogenezie niektórych chorób z kręgu autoimmunizacji [106].

Witamina $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ oddziałuje ponadto na limfocyty regulatorowe, T reg. Zadaniem limfocytów T reg jest kontrola i hamowanie nadmiernej reakcji przeciwzapalnej, reakcji typu nadwrażliwości oraz nadmiernej reaktywności, w szczególności wobec własnych antygenów [98]. Witamina D stymuluje wydzielanie immunosupersyjnych cytokin IL-10 i TGF beta, ułatwiając różnicowanie limfocytów T regulatorowych [107].

Badania Chen i wsp. wykazały niewielką naturalną ekspresję genu *VDR* w limfocytach B oraz jej zwiększenie w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Wpływa to

supresyjnie na proliferację limfocytów B oraz różnicowanie się komórek plazmatycznych i wytwarzanie przeciwciał [108].

Nadrzędną rolę w stosunku do limfocytów T odgrywają komórki dendrytyczne (*DC, dendritic cells*), należące do komórek prezentujących antygen (*APC, antigen presenting cells*). Jest to populacja heterogenna wykazująca możliwość immunoregulacji i wytwarzania immunotolerancji oraz pobudzania limfocytów T po kontakcie z obcym antygenem czy komórką nowotworową [98]. Komórki dendrytyczne doprowadzają do różnicowania się naiwnych limfocytów T do postaci komórek CD4+, CD8+ oraz limfocytów T reg [109]. Aktywna postać witaminy D poprzez działanie regulacyjne na komórkę prezentującą antygen, głównie na indukującą tolerancję immunologiczną DC, hamuje powstawanie limfocytów T efektorowych i jednocześnie stymuluje powstawanie limfocytów T regulatorowych [110].

Udział witaminy D w regulacji odpowiedzi odpornościowej znajduje swoje odzwierciedlenie w licznych badaniach nad patogenezą chorób autoimmunizacyjnych. Najwięcej obserwacji dotyczy badań nad stwardnieniem rozsianym, toczeniem rumieniowatym układowym, autoimmunizacyjnym zapaleniem tarczycy, cukrzycą typu 1 oraz nieswoistymi zapaleniami jelit [103] [111] [112] [113] [114].

1.10 Witamina D w chorobach przewodu pokarmowego

Witamina D do swojego optymalnego działania wymaga prawidłowego anatomicznie i funkcjonalnie przewodu pokarmowego, ze szczególnym uwzględnieniem budowy i fizjologii jelita cienkiego, wątroby i trzustki. Przewód pokarmowy stanowi miejsce wchłaniania witaminy D przy jej podaży doustnej. W wątrobie zachodzą przemiany metaboliczne witaminy D, ale także tutaj produkowane jest białko DBP (*vitamin D binding protein*) niezbędne do jej transportu. Istotną rolę w obrocie witaminy D odgrywa krążenie wątrobowo – jelitowe, które zmienia się wraz z wiekiem, stosowanymi lekami czy ewentualnymi zabiegami operacyjnymi [115].

Zagadnieniem, któremu poświęcono wiele uwagi są zaburzenia wchłaniania i metabolizmu witaminy D u chorych na nieswoiste zapalenie jelit [51] [116].

1.11 Nieswoiste zapalenie jelit

Do przewlekłych schorzeń zapalnych przewodu pokarmowego określanych mianem nieswoistych zapaleń jelit (NZJ) należą choroba Leśniowskiego - Crohna (ChLC) oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). Ponadto do tej grupy chorób zalicza się również sprawiające trudności diagnostyczne atypowe nieswoiste zapalenie jelita grubego - mikroskopowe zapalenie jelit (kolagenowe i limfocytarne), eozynofilowe zapalenie przewodu pokarmowego, choroba Behceta, zapalenie zbiornika jelitowego (*pouchitis*) oraz wrzód samotny odbytnicy [117] [118] [119].

Szczyt zachorowań na NZJ przypada na wiek 15-30 lat [120] [121]. U około 20% pacjentów z chorobą Leśniowskiego - Crohna i 12% z wrzodziejącym zapalenie jelita grubego chorobę rozpoznaje się przed ukończeniem 20 roku życia [122]. W ostatnich latach zaobserwowano wzrost zachorowalności na NZJ [123]. Choroba występuje najczęściej w krajach Europy Północnej - Wielkiej Brytanii i Skandynawii (8-294 osoby /100 000 mieszkańców) oraz Ameryki Północnej - Stanach Zjednoczonych (37-238 osoby /100 000 mieszkańców) [124] [125] [126].

W populacji pediatrycznej w Polsce wskaźnik zachorowalności na NZJ wynosi 2,7/100 000 dzieci na rok (dla ChLC 0,7/100000, a dla WZJG 1,3/100000). Choroba występuje u obu płci z jednakową częstością [118]. Wg najnowszych danych pochodzących z maja 2016 roku w Polsce zarejestrowano 6209 chorych na ChLC [127].

1.11.1 Etiopatogeneza NZJ

Etiopatogeneza nieswoistych zapaleń jelit jest wieloczynnikowa i dotychczas nie została w pełni poznana. Uważa się, że w rozwoju przewlekłych zmian zapalnych w jelicie biorą udział czynniki genetyczne, immunologiczne oraz środowiskowe [128].

1.11.1.1 Etiopatogeneza NZJ - czynniki genetyczne

Zwiększona częstość występowania NZJ wśród członków rodzin wskazuje na udział czynnika genetycznego. W badaniach przeprowadzonych w Europie wykazano zgodność występowania ChLC (*concordance rate*) w 30-50% u bliźniąt jednojajowych oraz do 10% u dwujajowych [129] [130] [131]. Ciekawe są spostrzeżenia Halfvarsona i wsp., którzy wykazali podobną lokalizację choroby u większości bliźniąt chorujących na ChLC [129]. Komponenta genetyczna jest

mniej jednoznaczna w przypadku chorych na WZJG. Występowanie choroby u bliźniąt jednojajowych oscyluje w granicach 16%, a u dwujajowych około 4% [129] [130] [131].

Wszechstronne badania genomu ludzkiego (*GWAS, genome-wide association studies*) wykazały położenie (*loci*) ponad 100 genów podatności na NZJ, głównie w obrębie chromosomów 1, 5, 6, 12, 14, 16 i 19 [132] [133]. Szczególną uwagę skupia gen *IBDI* zlokalizowany na chromosomie 16 kodujący białko NOD2 (*CARD15*). Mutacje tego genu zwiększają podatność na występowanie ChLC o lokalizacji krętniczej z tendencją do tworzenia zwężeń, o zwiększonym ryzyku konieczności przeprowadzenia resekcji chirurgicznej [134]. Ponadto obecność dwóch alleli zmutowanego genu 20-40 - krotnie zwiększa ryzyko zachorowania na ChLC [135]. Jak wcześniej wspomniano białko genu *NOD2* aktywuje kompleks białkowy działający jako czynnik transkrypcyjny NF kappaB w odpowiedzi na kontakt z dipeptydem muramylowym, fragmentem bakteryjnego peptydoglikanu; proces ten jest nieaktywny u pacjentów z mutacją genu *NOD2* [136]. Wykazano również związek zwiększonej częstości występowania NZJ wśród chorych, u których rozpoznano niektóre zespoły genetyczne np. zespół Turnera, zespół Hermansky-Pudlak oraz glikogenoza typu 1b [137] [138] [139].

Kolejną przesłanką wskazującą na istotne podłoże genetyczne NZJ jest związek między chorobą a allelami antygenów II klasy układu zgodności tkankowej (*MHC, major histocompatibility complex*) na chromosomie 6. U chorych na WZJG stwierdzono częstsze występowanie allelu HLA-DR2, a u chorych na ChLC - alleli HLA-DR1 i DQ5 [140] [141].

1.11.1.2 Etiopatogeneza NZJ - czynniki środowiskowe

Na patogenezę NZJ mają wpływ również czynniki środowiskowe. Wśród najważniejszych wyróżniamy: bakterie wchodzące w skład flory jelitowej, rodzaj spożywanej diety, związki chemiczne zawarte w pożywieniu i otoczeniu człowieka oraz palenie tytoniu [142].

Występujące dość powszechnie w tak zwanej „diecie miejskiej” sztuczne barwniki, spulchniacze, konserwanty, leki czy wysoko przetworzone produkty wchodzące w skład potraw zawierają liczne aminokwasy siarkowe oraz mukopolisacharydy, które stanowią pożywkę dla bakterii redukujących siarczany (*SRB, sulphur reducing bacteria*) [143]. Powstające w wyniku reakcji związki siarkowe uszkodzają nabłonek

jelitowy doprowadzając do miejscowego stanu zapalnego. Obecność bakterii redukujących siarczany w kale wykazano u prawie 98% chorych na WZJG [144].

Analiza diety przeprowadzona wśród mieszkańców Japonii chorych na NZJ wykazała, iż spożycie błonnika, głównie w postaci owoców oraz kwasów omega-3 wiązało się ze zmniejszonym ryzykiem występowania u nich NZJ [145].

Rola dysbiozy, czyli zaburzenia ekosystemu mikroflory przewodu pokarmowego, w patogenezie NZJ jest podkreślana wielokrotnie. Szczególne zainteresowanie budzi fakt zwiększonej liczby bakterii beztlenowych, głównie Gram ujemnych z rodzaju *Bacteroides* czy *Clostridium* w jelicie chorych na NZJ. Drobnoustroje te wytwarzają toksyny o właściwościach proteolitycznych, przez co wpływają na wzrost przepuszczalności nabłonka jelitowego [146] [147]. Prowadzi to do dalszego przerostu bakterii niekorzystnych dla organizmu i w rezultacie do spadku liczby bakterii z gatunku *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, co potęguje kolonizację nabłonka jelitowego przez drobnoustroje patogenne [148] [149].

Zaburzenia mikroflory bakteryjnej jako czynnika sprawczego bądź spustowego zachorowania na NZJ są przedmiotem szerokich badań. W analizie przeprowadzonej u 3000 chorych na NZJ oraz grupie kontrolnej liczącej 11 600 osób, wykazano zwiększone ryzyko zachorowania na NZJ u osób, które uprzednio przebyły niezbyt żołądkowo-jelitowy [150].

Niektórzy badacze twierdzą, iż nawet typowa mikroflora bakteryjna może przyczynić się do rozwoju NZJ u genetycznie podatnych osobników. Badania przeprowadzone na zwierzętach modyfikowanych genetycznie wykazały, że nie rozwijały one NZJ w środowisku wolnym od bakterii [151].

Teoria higieniczna wskazuje na czynniki środowiskowe jako przyczynę wzrostu częstości występowania chorób autoimmunizacyjnych. Christen i wsp. postulują, iż w dobie szczepień ochronnych, poprawy jakości warunków sanitarnych oraz spadku częstości infekcji, układ immunologiczny nie potrafi się odpowiednio dostosować do zaistniałej rzeczywistości co doprowadza do nadmiernej jego aktywacji i w rezultacie procesu chorobowego [152]. W przypadku chorych na NZJ niekontrolowana odpowiedź układu immunologicznego na kontakt z florą bakteryjną doprowadza do rozwoju choroby [153]. Badania eksperymentalne wykazały, iż zakażenie przewodu pokarmowego może hamować rozwój NZJ [154]. W niektórych przypadkach stosowanie probiotyków może wywierać pozytywny efekt u chorych na NZJ [155].

Związek między paleniem tytoniu a NZJ wydaje się być kontrowersyjny - mechanizm tego zjawiska nie jest do końca poznany. Udowodniono, iż palenie tytoniu wywołuje wzrost stężenia endogennych kortykosteroidów, powodując wzrost liczby limfocytów T cytotoksycznych i spadek liczby limfocytów T pomocniczych. W następstwie palenia tytoniu dochodzi do wzrostu ilości wolnych rodników tlenowych w błonie śluzowej, co może powodować wzrost przepuszczalności ściany jelit. U pacjentów z WZJG palenie tytoniu może mieć pozytywny wpływ na przebieg choroby, jednakże w przypadku ChLC jest czynnikiem niekorzystnym rokowniczo [143] [156].

Analizowany jest również wpływ innych czynników środowiskowych: niektórych leków (antybiotyki, antykoncepcja, terapia hormonalna, izoretinoina, NLPZ), otyłości, stresu, czynników socjoekonomicznych, małej aktywności fizycznej czy appendektomii. Dotychczasowe wyniki są niespójne i wymagają weryfikacji w badaniach przeprowadzonych w większych grupach chorych [157] [158] [159] [160] [161] [162].

1.11.1.3 Etiopatogeneza NZJ - czynniki immunologiczne

Udział zaburzeń immunoregulacji w patogenezie NZJ jest przedmiotem licznych badań. Miejscowa odporność śluzówki jelita to tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego nazywana GALT (*gut associated lymphoid tissue*). W skład GALT wchodzi kępkę Peyera, grudki limfatyczne oraz rozsiane komórki limfatyczne i plazmatyczne w blaszce właściwej błony śluzowej. Zaburzenia odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej jelit wspólnie z czynnikami środowiskowymi i genetycznymi biorą udział w patogenezie NZJ [163].

Wśród wielu komórek układu odpornościowego to limfocyty CD4⁺ poprzez produkcję prozapalnych cytokin odgrywają główną rolę w indukcji i podtrzymaniu przewlekłego stanu zapalnego [168]. W badaniach *in vitro* wykazano nadmierną obecność cytokin prozapalnych stymulujących proliferację limfocytów T oraz makrofagów, ekspresję molekuł adhezji (CD 54, CD 62L, ICAM-1), ekspresję receptorów chemokin (CCR5, CCR6, CCR9), selektyn (selektyna E) i sekrecję innych cytokin prozapalnych [164] [165]. W warunkach *in vivo* dochodzi do dalszych interakcji między komórkami układu immunologicznego, które poprzez krążenie dostają się do błony śluzowej jelita, prowokując powstanie miejscowego stanu zapalnego [165] [166].

Limfocyty T pomocnicze izolowane ze zmienionej zapalnie śluzówki jelita pacjentów z ChLC, po stymulacji *in vitro*, produkują duże ilości prozapalnych cytokin związanych z limfocytami Th1/Th17 (IFN-gamma, TNF, IL-17A), co ukierunkowuje odpowiedź immunologiczną na odpowiedź typu komórkowego [167]. W licznych badaniach wykazano w śluzówce jelita chorych na ChLC istotną przewagę cytokin prozapalnych (IL-12, IL-18, IL-21, IL-23) w stosunku do cytokin przeciwzapalnych (TGF-beta, IL-10, IL-25, IL-33, IL37) [165] [166]. U chorych z ChLC występuje również zwiększone stężenie IL-2 będącej czynnikiem wzrostu dla limfocytów T cytotoksycznych i komórek NK. Interleukina 2 bierze również udział w polaryzacji immunologicznej, stymulując odpowiedź Th1-zależną [168]. Ponadto, u pacjentów z ChLC wykazano obecność dysfunkcyjnych limfocytów T regulatorowych oraz komórek CD4+FoxP3-IL-10-, które zaburzają proces tolerancji immunologicznej i prowadzą do dalszego uszkodzenia śluzówki jelita [169].

Mutacje genu kodującego IL-10 lub receptor IL-10 wiązały się z wczesnym wiekiem zachorowania oraz cięższym przebiegiem ChLC. Interleukina 10 należy do grupy cytokin przeciwzapalnych, produkowana jest głównie przez makrofagi, komórki dendrytyczne, limfocyty B oraz limfocyty T regulatorowe [170].

Dla WZJG typowa jest wzmożona ekspresja subpopulacji limfocytów Th2 odpowiedzialnych za humoralny typ odpowiedzi ze zwiększoną syntezą przeciwciał oraz przewaga cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-8, TNF α) w stosunku do cytokin o właściwościach przeciwzapalnych (IL-4, IL-10) [128] [164].

Autoprzeciwciała pojawiające się zarówno w przypadku ChLC jak i WZJG mogą świadczyć o dysregulacji immunologicznej. Przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) są typowe dla chorych z ChLC, natomiast u pacjentów z WZJG obserwuje się zwiększoną częstość występowania przeciwciał pANCA (*anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*). Przy trudnościach diagnostycznych przeciwciała te mogą również służyć jako marker typu nieswoistego zapalenia jelit [171] [172].

1.11.2 Charakterystyka nieswoistych zapaleń jelit

Rozpoznanie NZJ jest ustalane na podstawie: wywiadu, obrazu klinicznego, wyników badań laboratoryjnych i obrazowych oraz badań endoskopowych i histopatologicznych [173].

Analiza objawów opisywanych przy rozpoznaniu NZJ u 623 dzieci z Wielkiej Brytanii i Irlandii wykazała jako najczęstsze: bóle brzucha, biegunkę oraz utratę

masy ciała [174]. U dzieci z ChLC bóle brzucha tzw. pseudowrostkowe, zlokalizowane są głównie w prawym dole biodrowym, natomiast biegunka jest wodnisto-śluzowa, niekiedy z krwią. U pacjentów pediatrycznych z WZJG najczęściej występują bóle brzucha nasilające się w czasie defekacji, głównie w lewym dole biodrowym oraz biegunka lub krwawienie z odbytu [117] [175]. W tabeli 4 przedstawiono najczęstsze objawy oraz powikłania występujące w przebiegu NZJ [117] [119] [175] [176].

Tabela 4. Objawy oraz powikłania NZJ [117] [119] [175] [176] w modyfikacji własnej

1. Bóle brzucha, wzdęcia brzucha
2. Biegunka wodnisto-śluzowa, krwista
3. Nudności/wymioty
4. Gorączka
5. Zaburzenia łaknienia, utrata masy ciała
6. Opóźnienie dojrzewania oraz wzrastania (zaburzenia miesiączkowania)
7. Zapalenie trzustki
8. Schorzenia wątroby - stłuszczenie, niespecyficzne zwiększenie aktywności aminotransferaz, przewlekłe zapalenie wątroby, kamica żółciowa, niekamicze zapalenie pęcherzyka żółciowego, zespół Budd-Chiari, AIH, stwardniające zapalenie dróg żółciowych
9. Ropnie i przetoki okołodbytowe, niedrożność jelit, krwawienie, perforacja, megacolon toxicum
10. Nowotwory jelita grubego
10. Zaburzenia psychiatryczne
12. Zajęcie układu kostno - stawowego (ból stawów, zapalenie stawów, zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, osteopenia, martwica aseptyczna kości)
13. Zapalenie naczyniówki, rogówki, twardówki
14. Zmiany skórne - rumień guzowaty, piodermia zgorzelinowa
15. Zmiany śluzówkowe (obrzęk warg, przerost dziąseł, owrzodzenia, afty Suttona)
16. Zaburzenia hematologiczne i naczyniowe (niedokrwistość, trombocytoza, trombocytopenia, nadkrzepliwość - zakrzepica, zapalenie żył, zakrzepica żyły wrotnej)
17. Schorzenia dróg moczowo-płciowych (kamica dróg moczowych, wodonercze zaporowe, przetoki jelitowo-pęcherzowe, zapalenie nerek, amyloidoza)

Objawy pozajelitowe występują u pacjentów pediatrycznych rzadziej niż u chorych dorosłych, może mieć to związek z krótszym czasem trwania choroby [175].

Zalecenia ESPGHAN opublikowane w 2005 roku znane jako "*PORTO Criteria*" proponują w ramach diagnostyki NZJ wykonanie szerokiego panelu badań laboratoryjnych krwi (morfologia krwi obwodowej, parametry stanu zapalnego - OB, CRP, parametry funkcji nerek - mocznik, kreatynina, jony, funkcji wątroby – aktywność aminotransferaz, parametry cholestazy, elektroforezę białek) i kału (stężenie kalprotektyny) oraz mikrobiologicznych (posiew kału, badanie na obecność toksyn A i B *Clostridium difficile*, antygen *Lamblii*) [173].

Kolejnym narzędziem diagnostycznym wykorzystywanym w diagnostyce NZJ są badania obrazowe. Metodą z wyboru w ocenie zajęcia jelita cienkiego u chorych z ChLC jest enterokliza lub enterografia metodą rezonansu magnetycznego, która pozwala na uwidocznienie zwężenia światła jelit, pogrubienie ich ściany, zobrazowanie przetok, ropni, zajęcia sąsiadujących narządów oraz wykazanie cech niedrożności mechanicznej. Inne przydatne i ogólniedostępne badanie to ultrasonografia, w szczególności po podaniu doustnego środka kontrastowego (*SICUS, small intestine contrast ultrasonography*). Pasaż przewodu pokarmowego czy wlew doodbytniczy tracą obecnie na znaczeniu wobec dostępności innych nowoczesnych technik obrazowania. Enterokliza lub enterografia metodą tomografii komputerowej wykonywana jest stosunkowo rzadko ze względu na dużą dawkę promieniowania rentgenowskiego [117] [177] [178] [179].

Niezbędnym badaniem diagnostycznym jest endoskopia. Zaleca się wykonanie endoskopii całego przewodu pokarmowego, w tym gastroskopii, niezależnie od obecności objawów zajęcia górnego odcinka przewodu pokarmowego [173]. Charakterystyczne dla NZJ zmiany makroskopowe uzyskane w badaniu endoskopowym oraz obraz mikroskopowy biopsji błony śluzowej jelita grubego zestawiono w tabeli 5. Brak nieprawidłowości typowych dla NZJ w badaniu endoskopowym czy histopatologicznym nie wyklucza jednakże rozpoznania choroby [117] [119] [173].

Tabela 5. Zmiany makroskopowe w endoskopii oraz mikroskopowe w badaniu histopatologicznym typowe dla chorych z NZJ [117] [119] [173] w modyfikacji własnej

ChLC	WZJG
Obraz w badaniu endoskopowym:	
Owrzodzenia: pojedyncze, mnogie, powstające nad grudką chłonną	Zlewne, nieregularne owrzodzenia pokryte włóknikiem, śluzem i ropą
"Objaw brukowania" - występowanie obok siebie fragmentów przerośniętej błony śluzowej niezmienionej zapalnie obok zmian chorobowych	Przekrwienie, kruchość, obrzęk błony śluzowej, zatarcie charakterystycznego rysunku naczyniowego
Zmiany zapalne mają charakter ogniskowy lub odcinkowy	Proces zapalny rozpoczyna się w rectum i szerzy się proksymalnie w sposób ciągły
Zmiany zapalne występują na całej długości przewodu pokarmowego	Zmiany zapalne dotyczą jelita grubego
Zmiany zapalne dotyczą całej grubości ściany jelita	Ograniczenie zmian jedynie do błony śluzowej jelita grubego
Przetoki, zrosty międzypętłowe, zwężenia	Pseudopolipy - wybujale fragmenty błony śluzowej pomiędzy owrzodzeniami
Histopatologicznie:	
<ul style="list-style-type: none"> - naciek zapalny (limfocyty, histiocyty, plazmocyty) - ziarniniaki nieserowaciejące złożone z komórek wielojądrowych oraz komórek nabłonkowych - mikroziarniniaki - ogniskowe skupienia limfocytów - głębokie owrzodzenia otoczone hipertroficznymi wysepkami zdrowej błony śluzowej 	<ul style="list-style-type: none"> - naciek zapalny (limfocyty, plazmocyty, granulocyty, eozynocyty) - mikroropnie, pseudoropnie krypt (wypełnione ropą, śluzem i krwią krypty jelitowe)

Nieswoiste zapalenia jelit są schorzeniem przebiegającym z okresami zaostrzeń i remisji. Do oceny aktywności ChLC służy skala PCDAI (*Pediatric Crohn's Disease Activity Index*), natomiast u chorych z WZJG stosuje się skalę Truelove - Wittsa,

obydwie w modyfikacji wg Ryżki i Woynarowskiego [180] [181]. Lokalizację i charakter zmian określa się u chorych z NZJ wg skali paryskiej [182].

1.11.3 Leczenie NZJ

Ze względu na wieloczynnikową i niejednoznaczną etiologię NZJ leczenie przyczynowe tych schorzeń nie jest znane. Głównym celem terapii jest utrzymanie remisji klinicznej, co wpływa korzystnie na rozwój fizyczny i psychiczny pacjenta pediatrycznego oraz poprawę jego jakości życia [183] [184]. Wytyczne wspólnego konsensusu dwóch Europejskich Towarzystw ECCO (*The European Crohn's and Colitis Organisation*) i ESPGHAN (*The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition*) wymieniają trzy metody leczenia: żywieniowe, farmakologiczne oraz chirurgiczne. Pierwszym etapem leczenia jest terapia indukcyjna, której celem jest kliniczna remisja, kolejnym etapem jest terapia mająca na celu podtrzymanie remisji [183] [184]. Autorzy wytycznych podkreślają, iż celem leczenia jest "głęboka" remisja, czyli osiągnięcie "gojenia śluzówkowego" (*ang. mucosal healing*), co może mieć wpływ na zmianę historii naturalnej choroby i zmniejszenie ryzyka konieczności interwencji chirurgicznej [183] [184].

Metodą leczenia z wyboru w indukcji remisji dzieci z ChLC (o lokalizacji zarówno krętniczo - kątniczej jak i w okrężnicy) jest całkowite żywienie dojelitowe stosowane przez okres 6-8 tygodni co wg danych literaturowych prowadzi do gojenia śluzówkowego [185] [186] [187]. W terapii indukcyjnej ChLC o ciężkim przebiegu zaleca się także stosowanie sterydoterapii (doustnej lub dożylniej w zależności od ciężkości choroby) oraz antybiotykoterapię (metronidazol lub cyprofloksacynę). W ramach terapii podtrzymującej leczenie prowadzi się przy pomocy aminosalisylanów, tiopuryn (azatiopryna, 6-merkaptopuryna), metotreksatu oraz stosuje się leki biologiczne czy biopodobne (preparaty anty-TNF-alfa - infliximab, adalimumab) [183]. Terapia biologiczna może być rozważana jako leczenie indukcyjne pierwszego rzutu u pacjentów z dużym ryzykiem ciężkiego przebiegu choroby i niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi, a także w przypadku występowania ciężkich objawów pozajelitowych.

Leczenie chorych z WZJG polega na stosowaniu w terapii indukcyjnej przede wszystkim aminosalicylanów (w zależności od przebiegu choroby - doustnie lub doodbytniczo). W postaci średnio-ciężkiej lub ciężkiej wdrażana jest terapia glikokortykosteroidami (w zależności od przebiegu choroby doustnie, doodbytniczo

lub dożylnie). Prognozując stosunkowo ciężki przebieg choroby stosuje się pochodne tiopuryn. Wśród innych opcji terapeutycznych należy wymienić: metotreksat czy leki biologiczne/biopodobne w terapii podtrzymującej [184]. U chorych z WZJG swoje miejsce znajduje leczenie chirurgiczne polegające na kolektomii lub oszczędzającej proktokolektomii [184]. W przypadku ChLC postępowanie chirurgiczne wdraża się przede wszystkim w leczeniu powikłań choroby (przetoki, zwężenia, perforacje). Wytyczne podkreślają ważną rolę wsparcia żywieniowego oraz psychospołecznego w trakcie leczenia chorych z NZJ.

W przypadku postaci NZJ opornych na leczenie standardowe w terapii choroby znajdują zastosowanie inhibitory kalcyneuryny (cyklosporyna, takrolimus) czy inne leki immunosupresyjne, takie jak mykofenolan mofetylu czy talidomid. Obecnie prowadzone są liczne badania kliniczne nad lekami - kandydatami; najbardziej zaawansowane dotyczą ustekinumabu (monoklonalne przeciwciało IgGk1), antagonistów integryny (natalizumab, vedolizumab) oraz terapii komórkami macierzystymi [183] [184] [188].

W porównaniu z dorosłymi, u dzieci przebieg NZJ jest zwykle cięższy, zmiany patologiczne dotyczą większego fragmentu jelita, choroba charakteryzuje się wyższą częstością powikłań oraz częstszą potrzebą zastosowania leczenia chirurgicznego [189] [190]. Ponadto do czynników ryzyka cięższego przebiegu choroby należy: płeć męska, młodszy wiek zachorowania oraz brak odpowiedzi na stosowaną sterydoterapię [191].

Przewlekły stan zapalny występujący w przebiegu NZJ może doprowadzić u pacjentów pediatrycznych do zaburzeń wzrastania. Współistniejące niedożywienie jest jedną z głównych przyczyn obniżenia masy i gęstości kości u około połowy dzieci z NZJ, co w rezultacie może prowadzić do zwiększonego ryzyka złamań oraz niższego, niż genetycznie zaprogramowany, wzrostu ostatecznego dziecka mimo zastosowania optymalnego leczenia [192].

Zaburzenia wzrastania u dzieci z NZJ są jednym z powodów zainteresowania badaczy rolą witaminy D w patogenezie tej jednostki chorobowej [116].

1.12 Witamina D a nieswoiste zapalenie jelit

Dane z piśmiennictwa podkreślające udział witaminy D w różnych aspektach regulacji odpowiedzi immunologicznej ustroju, sugerują rozważenie jej zaangażowania nie tylko jako witaminy uczestniczącej w homeostazie wapniowo-

fosforanowej, ale także jako mediatora auto- i parakrynnego z aktywnym udziałem w patomechanizmie wielu chorób, w tym nieswoistych zapaleniach jelit. W związku z tym, że wyniki większości badań analizujących status gospodarki wapniowo-fosforanowej w NZJ są niejednoznaczne, w ostatnich latach dyskusja skupia się na potencjalnej roli witaminy D jako czynnika ryzyka wystąpienia i ewolucji stanu zapalnego w jelicie [193].

Jak wykazano witamina D jest regulatorem układu odpornościowego o wielokierunkowym działaniu. Wpływa na odpowiedź przeciwbakteryjną, prezentację antygenów, regulację odporności wrodzonej i nabytej [193]. Jak wspomniano wcześniej receptor VD znajduje się na niemal wszystkich komórkach układu immunologicznego - limfocytach T i B, neutrofilach, komórkach prezentujących antygen takich jak komórki dendrytyczne czy makrofagi [193].

Udział witaminy D w procesach immunologicznych wykazali Cantorna i wsp. w badaniach eksperymentalnych na myszach pozbawionych genu dla IL-10, chorujących na NZJ [194]. U myszy modyfikowanych genetycznie, u których stężenie witaminy D było niskie obserwowano ciężkie objawy zapalenia jelit (biegunka, krwawienie z odbytu), natomiast myszy z prawidłową podażą witaminy D nie prezentowały podobnych objawów. W kolejnych badaniach eksperymentalnych na zwierzętach pozbawionych genu zarówno dla IL-10 jak i VDR (VDR/IL-10 KO) zaobserwowano piorunujący przebieg NZJ szybko prowadzący do zgonu. Jednym z czynników niekorzystnego przebiegu choroby u myszy VDR/IL 10 KO mogła być involucja grasicy [195].

U myszy modyfikowanych genetycznie pozbawionych receptora VD lub pozbawionych możliwości produkcji $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Cyp27b1-KO) dochodziło do zaburzeń mikroflory jelitowej, w tym wzrostu bakterii rodzaju *Bacteroidetes* czy *Helicobacteriaceae* [196].

W badaniach *ex vivo* przeprowadzonych na komórkach macierzystych (PBMC, *peripheral blood mononuclear cell*) uzyskanych od pacjentów chorujących na NZJ inkubowanych w obecności $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, u osób z WZJG uzyskano obniżenie stężenia IFN gamma i wzrost stężenia IL-10, cytokiny przeciwzapalnej. Natomiast u pacjentów z ChLC zaobserwowano spadek produkcji TNF-alfa, cytokiny produkowanej nadmiernie w przebiegu procesu zapalnego w jelicie [197]. Również w komórkach PMBC chorych na ChLC z aktywną postacią schorzenia zaobserwowano wyższą ekspresję genu *CYP27B1* kodującego 25-hydroksylazę,

w porównaniu do grupy osób w remisji [198]. Ponadto, limfocyty T pomocnicze inkubowane w obecności witaminy D powodowały wzrost komórek regulatorowych CD4+ CD25+ biorących udział w rozwoju tolerancji immunologicznej [198].

1.13 Czynniki ryzyka niedoboru witaminy D u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit

Zainteresowanie udziałem witaminy D w patogenezie NZJ sięgają lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku. Niestety ze względu na niejednorodne grupy badanych czy różną metodologię są one trudne do interpretacji [193].

Wyniki badań porównujących stężenie witaminy D u chorych na NZJ w stosunku do osób zdrowych są często sprzeczne [199] [200] [201] [202] [203] [204] [205] [206] [207] [208]. Szereg badań nie odnotowuje różnic istotnych statystycznie w stężeniu 25(OH)D₃ między chorymi z NZJ, a osobami zdrowymi [199] [200] [201] [202] [203] [204] [205].

Także analiza porównawcza stężenia witaminy D u chorych z różnymi postaciami NZJ (ChLC, WZJG) nie dostarcza jednoznacznych danych [203] [206] [208], aczkolwiek część badań wskazuje na niższe wartości poziomów tej witaminy u pacjentów z ChLC, zwłaszcza niedożywionych czy po zabiegu resekcji fragmentu jelita [202] [209] [210] [211].

Podobnie wyniki badań dotyczących stężenia witaminy D w populacji pediatrycznej z NZJ są niejednoznaczne [212] [213]. Część badaczy wskazuje jednak na jej głęboki niedobór w tej grupie chorych dzieci [116].

Badania dotyczące statusu witaminy D u pacjentów z NZJ z założenia były wykonywane u osób chorych, już po wystąpieniu objawów i ustaleniu rozpoznania, trudno więc jednoznacznie stwierdzić czy niedobór witaminy D jest przyczyną schorzenia czy też jego konsekwencją [193]. Na patogenezę niedoboru witaminy D w przebiegu NZJ wpływa wiele czynników.

U dorosłych z NZJ stopień niedoboru witaminy D wydaje się być związany z aktywnością choroby (wyższą wartością wskaźnika CDAI - *Crohn's Disease Activity Index*), podwyższonymi parametrami stanu zapalnego (białko C-reaktywne, ferrytyna), niższym stężeniem cholesterolu, dłuższym czasem trwania choroby, a w konsekwencji niedożywieniem oraz rozległością zmian chorobowych w jelicie cienkim. Ponadto do czynników ryzyka zaliczono: zmniejszoną ekspozycję

na promieniowanie słoneczne, palenie papierosów i resekcję jelita cienkiego [51] [116] [202].

Dzieci z NZJ stanowią szczególną grupę ryzyka niedoboru witaminy D. W przebiegu procesu chorobowego dochodzi do upośledzenia wchłaniania, enteropatii z utratą białka wtórną do stanu zapalnego w jelicie, w grupie tej w związku z chorobą ma miejsce obniżona ekspozycja na słońce oraz obniżona podaż witaminy D z diety. Szczególnie należy zwrócić uwagę na problem hipowitaminozy D u dzieci z ciemną karnacją, zamieszkujących północne szerokości geograficzne, z cięższym przebiegiem i wczesnym początkiem schorzenia, z niskim stężeniem albuminy, niższym BMI oraz odchyleniami w badaniu densytometrycznym. Dodatkowym, ważnym czynnikiem ryzyka jest objęcie procesem chorobowym górnego odcinka przewodu pokarmowego [51] [116].

1.14 Polimorfizmy genu receptora witaminy D u pacjentów z NZJ

Biorąc pod uwagę istotną rolę czynników immunologicznych w etiologii NZJ, uzasadnione są badania nad genami podatności na NZJ zaangażowanymi w procesy immunologiczne. Jednym z genów - kandydatów wymienianych w badaniach nad patogenezą NZJ jest gen receptora witaminy D (12q12-14) [87].

Jak wspomniano wcześniej do najczęstszych polimorfizmów genu *VDR* zaliczamy warianty: ApaI, TaqI, BsmI, FokI oraz Cdx2. W dostępnym piśmiennictwie analizowano związek określonego polimorfizmu genu *VDR* z częstością występowania NZJ. Na szczególną uwagę zasługują dwie metaanalizy porównujące 9 badań, których wyniki są niejednoznaczne [214] [215]. Xue i wsp. wykazali znaczący wzrost ryzyka WZJG u Azjatów w przypadku obecności homozygoty recesywnej polimorfizmu FokI (genotypu CC), natomiast homozygota recesywna polimorfizmu TaqI (genotyp CC) wiązał się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia ChLC u Europejczyków oraz zachorowania zarówno na ChLC jak i WZJG u mężczyzn z Azji. Nosicielstwo allelu "T" ApaI miało działanie protekcyjne wobec NZJ [214].

Natomiast Wang i wsp. wykazali brak związku między polimorfizmami ApaI, BsmI i FokI a występowaniem NZJ, stwierdzili jedynie zwiększone ryzyko zachorowania na ChLC w przypadku obecności homozygoty dominującej polimorfizmu ApaI (genotyp GG) oraz homozygoty dominującej oraz heterozygoty polimorfizmu BsmI (genotyp GG i GA) u Azjatów. Obecność homozygoty dominującej polimorfizmu

TaqI (genotyp TT) obniżała ryzyko wystąpienia WZJG u przedstawicieli rasy kaukaskiej [215].

Szeroki plejotropowy zakres działania witaminy D zachęca do odpowiedniej jej suplementacji w różnych grupach wiekowych oraz licznych schorzeniach. Zaangażowanie układu pokarmowego w działanie witaminy D nie tylko na poziomie anatomicznym, metabolicznym, ale i immunologicznym skłania do podejmowania badań u pacjentów ze schorzeniami przewodu pokarmowego. Pacjenci chorujący na nieswoiste zapalenie jelit, chorobę o niewyjaśnionej w pełni etiopatogenezie, stanowią interesujący obiekt badania roli witaminy D w patomechanizmie tych schorzeń.

2. Hipoteza badawcza i cel pracy

2.1 Hipoteza badawcza

U dzieci chorujących na nieswoiste zapalenie jelit występuje obniżony poziom witaminy D we krwi oraz stwierdza się zaburzenia w zakresie gospodarki wapniowo-fosforanowej.

Istnieje związek między obecnością polimorfizmów genu kodującego receptor witaminy D, a przebiegiem nieswoistych zapaleń jelit u dzieci.

2.2 Cel pracy

1. Ocena stopnia niedoboru witaminy D w populacji dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit w porównaniu do dzieci z grupy kontrolnej.
2. Poszukiwanie czynników mogących mieć wpływ na stężenie witaminy D we krwi w grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit oraz w grupie kontrolnej.
3. Ocena częstości występowania analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w badanej grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit oraz w grupie kontrolnej.
4. Poszukiwanie ewentualnego związku obecności polimorfizmów: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI i TaqI genu receptora witaminy D (*VDR, vitamin D receptor*) z predyspozycją do zachorowania na nieswoiste zapalenie jelit.
5. Określenie ewentualnego związku niedoboru witaminy D u badanych dzieci z nosicielstwem analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D.
6. Próba poszukiwania związku występowania polimorfizmów: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI i TaqI genu receptora witaminy D z przebiegiem klinicznym (aktywnością choroby, lokalizacją i rozległością zmian chorobowych) oraz wynikami wybranych badań laboratoryjnych w grupie dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit.
7. Dodatkowym celem było rozważenie wskazań do suplementacji witaminy D w badanej grupie dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit oraz w grupie kontrolnej.

3. Materiał i metody

3.1 Charakterystyka grupy badanej i porównawczej

Badaniami objęto 109 dzieci, w tym 46 dziewcząt (42,2%) i 63 chłopców (57,8%). Wiek pacjentów wahał się od 3,16 lat do 17,91 lat (średnio 14,21 lat, mediana 14,58 lat, SD 2,82 lat). Grupę badaną stanowili pacjenci Klinicznego Oddziału Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego (GUMed) w latach 2011-2015, natomiast grupę kontrolną (porównawczą) stanowiły dzieci hospitalizowane w Klinicznym Oddziale Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed oraz w Pediatrycznym Szpitalnym Oddziale Ratunkowym COPERNICUS Sp.z.o.o. w latach 2011-2015, u których w trakcie diagnostyki wykluczono: procesy zapalne, infekcyjne, zaburzenia immunologiczne, zaburzenia odżywiania, choroby nowotworowe oraz leczenie immunologiczne w czasie 6 miesięcy przed badaniem.

A. Grupa badana: 62 pacjentów (w wieku od 3,17 lat do 17,92 lat, średni wiek 14,4 lat, mediana 15,2 lat, SD 3,01 lat) z rozpoznaniem nieswoistych zapaleń jelit (NZJ): 23 dziewczynki i 39 chłopców:

a. 34 dzieci z chorobą Leśniowskiego - Crohna (ChLC): 10 dziewcząt i 24 chłopców, w wieku 8,5 do 17,9 lat, średni wiek 14,8 lat, mediana 15,05 lat, SD 2,17 lat,

b. 28 dzieci z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego (WZJG): 13 dziewcząt i 15 chłopców, w wieku od 3,16 do 17,9 lat, średni wiek 13,86 lat, mediana 15,41 lat, SD 3,76 lat.

B. Grupa kontrolna (porównawcza) (K) - 47 dzieci: 23 dziewcząt i 24 chłopców, w wieku od 8,3 do 17,9 lat, średni wiek 13,97 lat, mediana 14,25 lat, SD 2,67 lat.

Szczegółową charakterystykę analizowanych grup przedstawia tabela 6.

Tabela 6. Liczba i wiek dzieci w analizowanych grupach

Grupa	N	Średni wiek w latach	Mediana w latach	Min	Max	SD
K	47 (43,12%)	13,97	14,25	8,33	17,91	2,57
CHLC	34 (31,19%)	14,83	15,04	8,5	17,91	2,17
WZJG	28 (25,69%)	13,86	15,41	3,16	17,91	3,11

Kryterium zakwalifikowania do grupy badanej było rozpoznanie nieswoistego zapalenia jelit (NZJ), które ustalono na podstawie:

- a. obrazu klinicznego – badanie przedmiotowe i podmiotowe,
- b. badania endoskopowego – dolnego odcinka przewodu pokarmowego (pełna kolonoskopia), a u części badanych (podejrzenie ChLC), także górnego odcinka (gastroskopia),
- c. oceny histopatologicznej biopłatów błony śluzowej jelita grubego,
- d. wyników badań dodatkowych: morfologia krwi obwodowej, parametry stanu zapalnego (białko C-reaktywne - CRP, odczyn Biernackiego - OB), stężenie albuminy.

Kwalifikację oceny zarówno endoskopowej, jak i histologicznej błony śluzowej jelita u chorych z NZJ, przeprowadzono w oparciu o kryteria PORTO [173].

U wszystkich pacjentów z NZJ oceniono aktywność choroby: u pacjentów z chorobą Leśniowskiego – Cohna w oparciu o skalę PCDAI (*Pediatric Crohn's Disease Activity Index*), u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego – skalę Truelove-Wittsa, obydwie skale w modyfikacji Ryzki i Woynarowskiego (tabela 7 i 8) [180].

W analizie, biorąc pod uwagę aktywność NZJ (ChLC i WZJG), korzystano zarówno z bezwzględnej wartości punktowej jak i z podziału na 3 (WZJG) lub 4 (ChLC) stopnie aktywności choroby (w zależności od sumy uzyskanych punktów).

Tabela 7. Modyfikacja skali Truelove-Wittsa wg Ryzki i Woynarowskiego

Objaw	0 pkt	1 pkt	2 pkt
Stolce biegunkowe	Do 2	2-6	>6
Krew w stolcach	Brak	Ślad	Dużo
Temperatura	Norma	Do 38°C	>38°C
Stężenie hemoglobiny	>12 g/l	10-12 g/l	<10 g/l
OB	<10	10-30	>30
Wskaźnik Cole'a	>85%	80-85%	<80%

Ocena aktywności:

- | | | |
|------------|----------------------------|----|
| 0-4 pkt - | łagodna postać choroby | =1 |
| 5-8 pkt - | umiarkowana postać choroby | =2 |
| 9-12 pkt - | ciężka postać choroby | =3 |

Tabela 8. Modyfikacja skali PCDAI wg Ryżki i Woynarowskiego

Objawy	Liczba punktów
Bóle brzucha	
Brak	0
Słabe	5
Silne	10
Liczba stolców (dziennie)	
<2, bez krwi	0
2-5 luźnych lub ślad krwi	5
>5 lub znaczne krwawienie	10
Samopoczucie	
Dobre (pełna aktywność)	0
Nieco gorsze (mniejsza aktywność)	5
Złe (znaczne ograniczenie aktywności)	10
Stężenie hemoglobiny (g/dl)	
>12	0
10-12	2,5
<10	5
OB (mm/godz)	
<20	0
20-50	2,5
>50	5
Stężenie albumin (g/l)	
>35	0
31-35	5
<31	10
Wskaźnik Cole'a (%)	
>85	0
80-85	10
<85	20
Badanie palpacyjne brzucha	
Brak tkliwości i oporu	0
Nieznaczna tkliwość lub wyczuwalny guz	5
Wyrażna tkliwość i guz	10
Zmiany okołodbytnicze	
Brak	0
Niewielkie, bez bolesności	5
Przetoki, bolesność lub ropień	10
Objawy pozajelitowe (gorączka >38°C, zapalenie jamy ustnej, stawów, skóry itp.)	
Brak	0
Jeden z objawów	5
Dwa lub więcej	10

Ocena aktywności:

0-10 punktów -	brak aktywności	=1
11-25 punktów -	łagodna postać choroby	=2
26-50 punktów -	średnia postać choroby	=3
>51 punktów -	ciężka postać choroby	=4

3.2 Metodyka badań

Wszystkie badania zostały przeprowadzone po uzyskaniu pisemnej zgody rodziców/opiekunów prawnych dzieci oraz pacjentów, którzy ukończyli 16 rok życia. Zostali oni poinformowani o celu i założeniach badania. Formularze zgody na przeprowadzenie badań umieszczono w Aneksie (załącznik 1). Na wykonanie powyższych badań uzyskano zgodę Niezależnej Komisji Bioetycznej do Spraw Badań Naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym Nr 272/2011.

U wszystkich dzieci przeprowadzono pediatryczne badanie podmiotowe i przedmiotowe oraz badania laboratoryjne. W analizie korzystano z wyników badań laboratoryjnych wykonywanych rutynowo (ze wskazań medycznych) u chorych z NZJ – morfologia krwi obwodowej, CRP, OB, stężenie wapnia, fosforu, albuminy, witaminy D, parathormonu we krwi, aktywności fosfatazy alkalicznej oraz wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu. Materiał biologiczny (2 ml krwi) w celu oznaczenia polimorfizmów genu receptora witaminy D był pobierany w trakcie diagnostyki chorych z NZJ, dzieci nie były poddawane dodatkowo procedurom medycznym (jednorazowe ukłucie).

3.2.1. Badanie lekarskie

U wszystkich objętych analizą dzieci przeprowadzono szczegółowe badanie podmiotowe i przedmiotowe. Dodatkowo uzyskano informacje z analizy retrospektywnej danych z dokumentacji medycznej (historie chorób) oraz z informacji uzyskanych z dokumentacji medycznej posiadanej przez rodziców/opiekunów chorych dzieci.

Zwracano szczególną uwagę na wywiad dotyczący choroby podstawowej:

- objawy występujące przed ustaleniem rozpoznania
- data rozpoznania choroby
- klasyfikacja endoskopowa w momencie rozpoznania/badania
- czas, który upłynął od momentu rozpoznania choroby do przeprowadzenia badania
- dotychczas stosowane leki/suplementy (w tym całkowita dawka dotychczas stosowanych glikokortykosterydów w przeliczeniu na mg prednizonu oraz w stosunku do czasu trwania choroby), stosowane żywienie dojelitowe/pozajelitowe (w miesiącach)
- przebyte zabiegi operacyjne w obrębie jamy brzusznej, wykonane ze względu na powikłania choroby podstawowej

- przebyte złamania
- w momencie przeprowadzenia niniejszego badania analizowano:
 - obecność objawów mogących sugerować niedobór witaminy D
 - aktywność choroby (NZJ)
 - stosowane aktualnie leki

U wszystkich badanych przeprowadzono ankietę dotyczącą: częstości ekspozycji ciała na światło słoneczne (ręce, przedramiona i twarz przez co najmniej 30 minut), aktywności fizycznej (co najmniej 30 minut dziennie), stosowanej diety - wzór umieszczono w Aneksie (załącznik 2 i 3). Analizie przy udziale programu DIETA 5 poddano 3-dniowy dzienniczek żywieniowy osób z grupy badawczej i porównawczej.

U wszystkich dzieci oceniono parametry antropometryczne – masa ciała, percentyl masy ciała dla wieku i płci, wzrost, percentyl wzrostu dla wieku i płci, oraz parametry stanu odżywienia – wskaźnik masy ciała - BMI (*Body Mass Index*), percentyl BMI dla wieku i płci oraz wskaźnik Cole'a (*CI - Cole Index*), wyrażony w procentach.

Wzór według którego obliczano wskaźnik masy ciała:

$$\text{BMI} = \text{masa ciała} / \text{długość ciała}^2 \text{ [kg/m}^2\text{]}$$

Percentyl masy ciała i wzrostu oraz percentyl BMI dla każdego dziecka był określany na podstawie siatek centylowych referencyjnych dla populacji polskiej opracowanych przez zespół Instytutu Pomnik CZD w Warszawie w ramach projektu OLAF [216].

Wzór według którego obliczano wskaźnik Cole'a:

$$\text{Współczynnik Cole'a (\%)} = \frac{\text{masa ciała} \times \text{długość standardowa ciała}^2}{\text{standardowa masa ciała} \times \text{długość ciała}^2} \times 100$$

Wskaźnik Cole'a, który jest szeroko stosowany u pacjentów z NZJ, wyrażony w procentach, pozwala na następującą kwalifikację stanu odżywienia chorych:

>110%	- otyłość	=stopień 5
90-110%	- norma	=stopień 4
85-90%	- nieznaczne niedożywienie	=stopień 3
75-85%	- niedożywienie	=stopień 2
<75%	- wyniszczenie	=stopień 1

3.2.2 Pobieranie materiału biologicznego i zakres wykonywanych badań

3.2.2.1 Badania laboratoryjne

U wszystkich badanych dzieci oznaczono we krwi stężenie witaminy D oraz parathormonu, parametry gospodarki wapniowo – fosforanowej (stężenie wapnia, fosforu, aktywność fosfatazy alkalicznej), morfologię krwi obwodowej oraz parametry stanu zapalnego (CRP). Dodatkowo w grupie dzieci z NZJ oznaczono we krwi stężenie albuminy, odczyn Biernackiego (OB) oraz wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu.

3.2.2.2 Oznaczenie stężenia 25(OH)D w osoczu

Stężenie 25(OH)D oznaczane było w Centralnym Laboratorium Klinicznym Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku przy użyciu metody immunochemiluminescencji z wykorzystaniem analizatora Liaison XL firmy DiaSorin (metoda CLIA). Oznaczenie wykonywano w osoczu uzyskanym z krwi pobranej do próbówki z EDTA. Analizator LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay umożliwia oznaczenie całkowitego stężenia 25(OH)D w zakresie wartości 4,0 -150 ng/ml. Deklarowana przez producenta powtarzalność metody wyrażona wartością %CV wynosiła <7,0%, odtwarzalność wyrażona %CV wynosiła <12,0%. Test pozwala na oznaczenie, zgodnie z wytycznymi WHO, łącznie 25(OH)D₃ i 25(OH)D₂. Nie różnicuje C3-epimerów (jedynie metody HPLC pozwalają odróżniać C3-epimery).

Stężenie parathormonu (PTH) oznaczane było metodą immunochemiluminescencji przy użyciu odczynników i analizatora firmy Siemens (Immulite 1000). Zakres oznaczalności testu wynosił 3 - 2500 pg/ml. Deklarowane wartości: powtarzalność %CV 6,3%, odtwarzalność 8,6%. Zastosowany test pozwala na oznaczenie PTH *intact* czyli „nietkniętej cząsteczki” oraz również fragmentów 7-84 PTH. Nie identyfikuje natomiast fragmentów 1-34 i PTHrP.

Pozostałe parametry były badane na podstawie kolejno wymienionych metod: morfologia krwi obwodowej (metoda cytometrii przepływowej - liczba białych krwinek, metoda spektrofotometryczna - stężenie hemoglobiny, metoda impedancji stałoprądowej - liczba czerwonych krwinek, hematokryt, liczba płytek krwi), stężenie wapnia, fosforu, albuminy i aktywność fosfatazy alkalicznej - metoda spektrofotometryczna, stężenie CRP - metoda turbidymetryczna, OB - fotometryczna

analiza kinetyki przepływu w kapilarze (mikrofotometria), wskaźnik wapniowo - kreatyninowy w porcji moczu - parametr wyliczony.

3.2.2.3 Ocena zmian histopatologicznych w błonie śluzowej jelita grubego

U wszystkich dzieci z grupy badawczej, w ramach niezbędnej diagnostyki, wykonano badanie endoskopowe dolnego odcinka przewodu pokarmowego (kolonoskopia pełna, w sedacji). Podczas badania pobierano wycinki błony śluzowej jelita grubego do badania histopatologicznego oraz wyników badań dodatkowych. Badania wykonywano aparatami firmy Pentax (EC 3470 MK A 120014, EC 3870 FK 2 A120671). U części pacjentów (chorzy z CHLC) przeprowadzono również endoskopię górnego odcinka przewodu pokarmowego - aparaty firmy Pentax (EG 29-i10A 112866, EG 2990i, EG 2970K A 120615).

Rozpoznanie choroby ustalano w oparciu o obraz kliniczny, endoskopowy oraz wynik badania histopatologicznego. Do analizy zakwalifikowano jedynie tych chorych, u których rozpoznanie było jednoznaczne.

Ustalano lokalizację i rozległość zmian chorobowych przy użyciu skali montrealskiej w modyfikacji paryskiej w odniesieniu do ostatniej kolonoskopii przeprowadzonej w dniu badania lub w okresie poprzedzającym włączenie do badania (maksymalnie do 12 miesięcy).

3.2.2.4 Oznaczenie polimorfizmów genu kodującego receptor witaminy D

Oznaczenie polimorfizmów genu receptora witaminy D wykonano w Pracowni Genomiki i Genetyki Człowieka, Katedry Biologii Molekularnej, Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego.

Oznaczono 5 polimorfizmów genu receptora witaminy D:

- Fok I - umiejscowiony w eksonie 2 (rs10735810); substytucja cytozyny na tyminę
- Apa I - umiejscowiony w intronie między 8 a 9 eksonem (rs7975232); substytucja guaniny na tyminę
- Bsm I - umiejscowiony w intronie między 8 a 9 eksonem (rs731236); substytucja guaniny na adeninę
- Taq I - umiejscowiony w eksonie 9 (rs731236); substytucja tyminy na cytozynę
- Cdx2 - umiejscowiony w regionie promotorowym w eksonie 1 (rs11568820); substytucja guaniny na adeninę

3.2.2.4.1. Materiały wykorzystane do oznaczenia polimorfizmów w genie *VDR*

- Zestaw do izolacji DNA genomowego z krwi – QIAamp DNA Blood Mini Kit [QIAGEN]
- Taq DNA polymerase 1U/ μ l wraz z buforem, $MgCl_2$ oraz mieszaniną nukleotydów [Roche]
- Startery do amplifikacji fragmentów genu *VDR* [Thermo Scientific]; w mieszaninie wykorzystano 10 μ M każdego ze starterów (tabela 9)

Tabela 9. Startery do amplifikacji fragmentów genu *VDR*

Nazwa starteru	Sekwencja 5' → 3'	Wielkość produktu PCR [ilość par zasad=pz]
Cdx2-F	CATTGTAGAACATCTTTTGTATCAGGA	224
Cdx2-R	GACAAAAAGGATCAGGGATGA	
FokI-F	GGCCTGCTTGCTGTTCTTAC	174
FokI-R	TCACCTGAAGAAGCCTTTGC	
BsmI-F	CCTCACTGCCCTTAGCTCTG	209
BsmI-R	CCATCTCTCAGGCTCCAAAG	
Apa-Taq-F	CTGCCGTTGAGTGTCTGTGT	242
Apa-Taq-R	TCGGCTAGCTTCTGGATCAT	

- Startery do reakcji minisekwencjonowania [Thermo Scientific] (tabela 10); w mieszaninie wykorzystano 0,2 μ M każdego ze starterów

Tabela 10. Startery do reakcji minisekwencjonowania

Nazwa starteru	Sekwencja 5' → 3'
Cdx2-seq	CCTGAGTAAACTAGGTCACA
TaqI-seq	TTTTTTTTT GCGGTCCTGGATGGCCTC
ApaI-seq	TTTTTTTTTTTTTGTGGTGGGATTGAGCAGTGAGG
BsmI-seq	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAGAGCCTGAGTATTGGGAATG
FokI-seq	TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGCTGGCCGCCATTGCCTCC

- Bufor 1x TBE o składzie 100 mM Tris [Sigma] (pH 8.3), 90 mM kwas borowy [POCH] oraz 1 mM EDTA [Sigma]
- 1,5% roztwór agarozy [Prona] przygotowany w buforze 1x TBE (agarozę rozpuszczano poprzez zagotowanie roztworu w kuchenke mikrofalowej)
- Wzorec wielkości DNA – GeneRuler 100 bp DNA Ladder [Thermo Scientific™]

- Egzonukleaza I (ExoI) [USB® Products Affymetrix, Inc.]
- Alkaliczna fosfataza krewetkowa (SAP, *shrimp alkaline phosphatase*) wraz z 10x stężonym buforem reakcyjnym [USB® Products Affymetrix, Inc.]
- SnaPshot® Multiplex Kit [Applied Biosystems]
- GeneScan™ 120 LIZ® Size Standard [Applied Biosystems]
- BigDye® Sequencing Buffer, 5x [Applied Biosystems]
- Formamid HI-Di™ [Applied Biosystems]
- POP-4® Polymer for the 310 Genetic Analyzer [Applied Biosystems]
- 310 Running Buffer, 10x [Applied Biosystems]
- 310 Genetic Analyzer Capillary, 47 cm [Applied Biosystems]

3.2.2.4.2 Oznaczenia polimorfizmów w genie *VDR*

Do oznaczenia polimorfizmów Cdx2, TaqI, ApaI, BsmI oraz FokI w genie *VDR* zastosowano metodę minisekwencjonowania opisaną przez Lins i wsp. [217]. W metodzie tej wykorzystuje się specyficzne, nieznakowane startery, z których każdy jest komplementarny do fragmentu sekwencji bezpośrednio poprzedzającej badane miejsce polimorficzne (pozycja badanego polimorfizmu bezpośrednio przylega do 3'-końca zastosowanego startera). Podczas reakcji minisekwencyjnej, starter jest wydłużany wyłącznie o pojedynczy, znakowany fluorescencyjnie dideoksynukleotyd (ddNTP) znajdujący się w miejscu polimorficznym. Otrzymane w ten sposób produkty są rozdzielane metodą elektroforezy kapilarnej z jednoczesną detekcją wbudowanych nukleotydów. Zastosowanie ddNTP, z których każdy jest wyznakowany innym barwnikiem fluorescencyjnym, umożliwia rozróżnienie poszczególnych genotypów w badanych miejscach.

3.2.2.4.2.1 Izolacja DNA z krwi obwodowej

Izolację DNA genomowego przeprowadzono z 200 µl krwi obwodowej pobranej od dzieci z grupy badanej oraz porównawczej z wykorzystaniem zestawu do izolacji QIAamp DNA Blood Mini Kit [QIAGEN] wg instrukcji producenta.

3.2.2.4.2.2 Amplifikacja fragmentów genu *VDR* metodą multipleksowego PCR

Reakcję amplifikacji jednocześnie czterech fragmentów genu *VDR* (reakcja multipleks PCR) prowadzono w całkowitej objętości 12,5 µl mieszaniny reakcyjnej o następującym składzie:

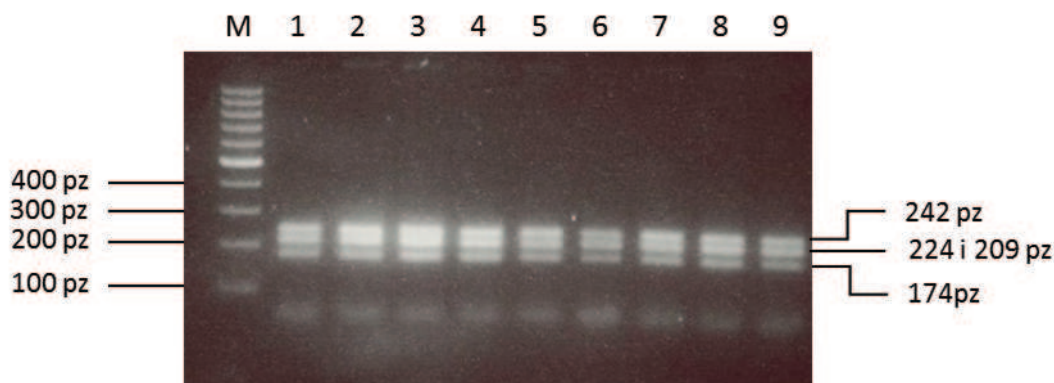
- 1x bufor do polimerazy bez MgCl₂ [Roche]
- 2,5 mM MgCl₂ [Roche]
- 250 mM dNTPs [Roche]
- 0,5 µM każdego ze starterów do amplifikacji genu *VDR*
- 10-40 ng matrycy DNA
- 1 U polimerazy Taq [Roche]

Reakcję amplifikacji wykonano w termocyklerze w etapach i warunkach opisanych w tabeli 11.

Tabela 11. Etapy i warunki reakcji amplifikacji

Etap reakcji	Temperatura	Czas
Wstępna denaturacja	95°C	5 min.
15 cykli amplifikacji	95°C	40 sek.
	62°C (temperatura była obniżana o 0,5°C w każdym kolejnym cyklu)	40 sek.
	72°C	40 sek.
	95°C	40 sek.
15 cykli amplifikacji	54°C	40 sek.
	72°C	40 sek.
	72°C	40 sek.
Końcowe wydłużanie	72°C	5 min.

Produkty amplifikacji rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym w obecności buforu 1x TBE w celu weryfikacji powstawania produktów po reakcji PCR (rycina 2).



Rycina 2. Przykładowy rozdział produktów amplifikacji fragmentów genu *VDR* metodą multipleksowego PCR w 1,5% żelu agarozowym w obecności buforu 1x TBE. Żel barwiono w roztworze bromku etydyny. Ścieżka M – wzorzec wielkości DNA GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific™), ścieżki 1-9 –produkty amplifikacji uzyskane dla 9 różnych matryc wyizolowanego genomowego DNA. Produkty o długości 224 i 209 pz migrują w postaci jednego prążka.

Produkty amplifikacji poddano oczyszczaniu przy użyciu egzonukleazy I (ExoI) oraz alkalicznej fosfatazy (SAP) w celu usunięcia ddNTP oraz starterów, których nadmiar nie został wbudowany w produkty podczas reakcji. Oczyszczanie 6 µl produktu PCR prowadzono w całkowitej objętości 10 µl w obecności 2U ExoI, 1,5U SAP oraz 0,5x buforu reakcyjnego do SAP. Mieszaninę inkubowano w 37°C przez 30 minut a następnie inaktywowano enzymy w 85°C przez 15 minut. Tak przygotowane produkty służyły jako matryca w reakcjach minisekwencjonowania.

3.2.2.4.2.3 Reakcja minisekwencjonowania fragmentów genu *VDR*

Reakcję minisekwencjonowania prowadzono z wykorzystaniem zestawu odczynników SNaPshot® Multiplex Kit [Applied Biosystems] oraz starterów do minisekwencjonowania Cdx2-seq, TaqI-seq, ApaI-seq, BsmI-seq, FokI-seq. Reakcję prowadzono w multipleksie w całkowitej objętości 5 µl mieszaniny reakcyjnej o następującym składzie:

- 1,25 µl SNaPshot® Multiplex Ready Reaction Mix
- 1,25 x BigDye® Sequencing Buffer
- 1 µl oczyszczonego produktu amplifikacji (z poprzedniego etapu)
- 1 µl mieszaniny starterów do minisekwencjonowania
- 0,5 µl wody dejonizowanej

Reakcję minisekwencjonowania prowadzono w termocyklerze w etapach i warunkach opisanych w tabeli 12.

Tabela 12. Etapy i warunki reakcji minisekwencjonowania

Etap reakcji	Temperatura	Czas
25 cykli amplifikacji	95°C	10 sek.
	50°C	5 sek.
	60°C	30 sek.
Chłodzenie	4°C	∞

Następnie do mieszaniny produktów uzyskanych w reakcji minisekwencjonowania dodawano 1U SAP (*shrimp alkaline phosphatase*, alkaliczna fosfataza krewetkowa) w celu usunięcia niewykorzystanych nukleotydów i starterów. Reakcję prowadzono w 37°C przez 60 minut, a następnie inaktywowano enzym w 75°C przez 15 minut. Oczyszczone w ten sposób produkty poddawano rozdzielowi kapilarnemu.

3.2.2.4.2.4 Rozdział kapilarny produktów minisekwencjonowania

W celu przeprowadzenia rozdzielu kapilarnego, produkty po reakcji minisekwencjonowania przygotowano w mieszaninie o następującym składzie:

- 9,2 µl formamidu HI-Di™ [Applied Biosystems]
- 0,5 µl produktu po reakcji minisekwencjonowania (oczyszczonego SAP)
- 0,3 µl wzorca wielkości GeneScan™ 120 LIZ® Size Standard [Applied Biosystems]

Mieszaninę denaturowano w temperaturze 95°C przez 5 min. a następnie schładzano na lodzie. Rozdział kapilarny zdenaturowanych produktów minisekwencjonowania prowadzono w analizatorze DNA ABI 310 [PerkinElmer] w warunkach denaturujących w temperaturze 60°C w czasie 16 minut przy użyciu polimeru POP4, kapilary o długości 47 cm, w obecności 1x buforu elektroforetycznego (310 Running Buffer). Analizę uzyskanych elektroforegramów wykonano w programie Peak Scanner Software v1.0 [Applied Biosystems]. Poszczególne genotypy rozróżniano na podstawie koloru szczytów odpowiadających poszczególnym nukleotydom: A – zielony (barwnik dR6G), C – czarny (barwnik dTAMRA™), G – niebieski (dR110), T – czerwony (dROX™).

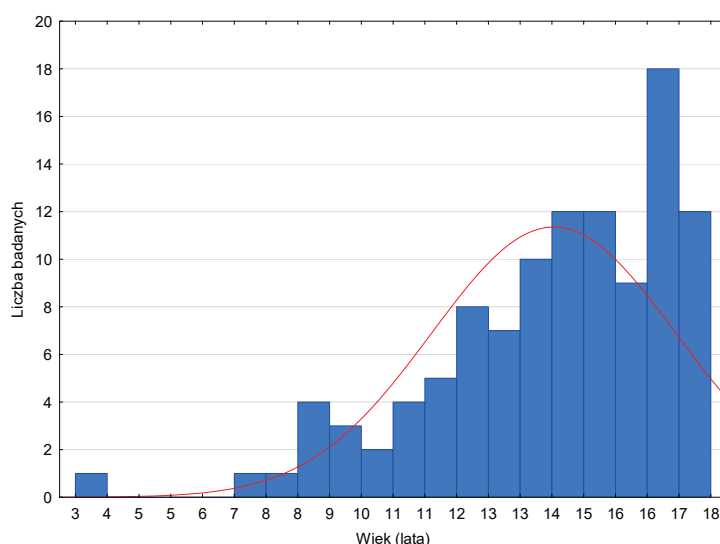
3.3 Metody analizy statystycznej

Dane zebrano i wstępnie przygotowano w arkuszu kalkulacyjnym *Excel* (*Microsoft Office 2010*). Do obliczeń statystycznych wykorzystano program *StatSoft STATISTICA 8.0*. Wszystkie zmienne ilościowe zostały poddane wstępnej analizie, celem ustalenia listy podstawowych charakterystyk: Średnia arytmetyczna, Mediana, Minimum, Maksimum oraz Odchylenie standardowe. Każda zmienna ilościowa została poddana analizie normalności wg *Shapiro-Wilka*. Jeśli spełniała warunki rozkładu normalnego (wg Gauss'a) to przyporządkowano ją do analizy przy użyciu testów parametrycznych. Jeśli zaś zmienna nie spełniała warunków rozkładu normalnego, to analizowano ją wyłącznie przy użyciu testów nieparametrycznych. Do określenia istotności różnic między średnimi analizowanych zmiennych wykorzystano odpowiednie testy parametryczne lub nieparametryczne: test t-Studenta lub *Test Manna-Whitneya-Wilcoxona*. Stopień wzajemnej zależności liniowej ustalono na podstawie współczynników korelacji *Pearsona* lub *Spearmana* (w zależności od rozkładu danych). Zmienne jakościowe uporządkowano i analizowano przy pomocy testu chi-kwadrat z lub bez poprawki *Yatesa* (wg liczebności próby). Jako różnice istotne statystycznie przyjęto wartości $p < 0,05$. Do przedstawienia danych na wykresie użyto programu *GraphPad Prism 5*.

4. Wyniki

4.1 Charakterystyka badanych

Analizie poddano 109 pacjentów, w tym 46 dziewcząt (42,2%) oraz 63 chłopców (57,8%). Wiek badanych mieścił się w przedziale od 3,16 lat do 17,9 lat (średnio 14,21 lat, mediana 14,58 lat, SD 2,82 lat). Rozkład zmiennych "wiek" nie spełniał kryteriów rozkładu normalnego (rycina 3).



Rycina 3. Rozkład wieku w badanej grupie dzieci

Grupę kontrolną (porównawczą) (K) stanowiło 47 osób (43,12%), w grupie chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit (NZJ) były 62 osoby (56,88%), w tym 34 osoby (31,19%) chorujące na chorobę Leśniowskiego - Crohna (ChLC) i 28 osób (25,69%) chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy dotyczącej wieku pacjentów pomiędzy poszczególnymi grupami (NZJ, K) ($p=0,21$) oraz podgrupami badanych (ChLC vs WZJG, ChLC vs K, WZJG vs K) ($p=0,18$, $p=0,18$, $p=0,87$) (tabela 13).

Tabela 13. Liczba i wiek (lata) pacjentów w poszczególnych grupach i podgrupach badanych

Grupa badana	N	Średni wiek	Mediana	Min.	Max	SD
K	47 (43,12%)	13,97	14,25	8,33	17,91	2,57
NZJ	62 (56,88%)	14,39	15,17	3,17	17,91	3,01
ChLC	34 (31,19%)	14,83	15,04	8,5	17,91	2,17
WZJG	28 (25,69%)	13,86	15,41	3,16	17,91	3,11

W badanej grupie dzieci nie obserwowano statystycznie istotnych różnic częstości występowania płci żeńskiej lub męskiej między analizowanymi grupami ($p=0,22$) i podgrupami badanych ($p=0,26$) (tabela 14).

Tabela 14. Płeć dzieci w poszczególnych grupach badanych

Grupa badana	Płeć męska (M)	Płeć żeńska (K)	Razem
NZJ	39 (62,9%)	23 (37,1%)	62
ChLC	24 (70,6%)	10 (29,4%)	34
WZJG	15 (53,6%)	13 (46,4%)	28
K	24 (51,1%)	23 (48,9%)	47

4.1.1. Aktywność kliniczna choroby

W ocenie stopnia ciężkości przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelit (WZJG) wykorzystywano skalę Truelove-Wittsa, a w przypadku choroby Leśniowskiego - Crohna skalę PCDAI (*Pediatric Crohn's Disease Activity Index*); obydwie skale w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego [180] [181].

Na podstawie bezwzględnych wartości punktowych wyliczonych dla poszczególnych grup chorych, pacjentów zakwalifikowano do jednej z opisanych grup aktywności choroby (szczegółowo opisano w rozdziale Materiał i metody). Ponieważ dla każdej z podgrup badanych stosowano inną skalę aktywności choroby, poszczególne stopnie aktywności choroby dla ChLC i WZJG trudno jednoznacznie uznać za porównywalne.

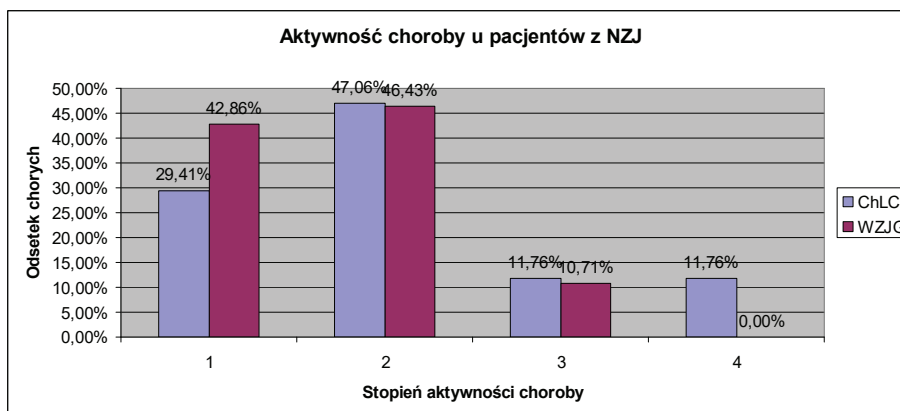
Liczbę pacjentów, u których zdefiniowano poszczególne stopnie aktywności choroby dla całej grupy badanych NZJ ($N=62$) przedstawiono w tabeli 15 i 16.

Tabela 15. Bezwzględna liczba punktów skali aktywności choroby dla poszczególnych grup chorych

Grupa badana	N	Średnia liczba punktów	Mediana	Min.	Max	SD
ChLC	34	20,132	16,25	0	65	17.816
WZJG	28	5,2857	6	1	9	2,7468

Tabela 16. Stopień aktywności choroby w poszczególnych grupach pacjentów

Liczba chorych	Stopień aktywności				Razem
	1	2	3	4	
ChLC	10 (29,41%)	16 (47,06%)	4 (11,76%)	4 (11,76%)	34
WZJG	12 (42,86%)	13 (46,43%)	3 (10,71%)		28



Rycina 4. Stopień aktywności choroby w poszczególnych grupach pacjentów

U większości dzieci z ChLC w momencie badania stwierdzono łagodną postać choroby (47,06%) lub brak aktywności choroby (29,41%); w grupie dzieci z WZJG u większości chorych (46,43%) w momencie badania stwierdzono jej umiarkowaną postać (rycina 4).

4.1.2 Ocena stanu odżywienia pacjentów z NZJ oraz w grupie porównawczej

4.1.2.1 Wartości percentyla masy ciała i wzrostu

W grupie badanej i porównawczej dokonano pomiaru masy ciała i wzrostu oraz określono percentyl masy ciała i wzrostu w stosunku do wieku i płci.

Dzieci w grupie chorych z NZJ były niższe i miały mniejszą masę ciała w stosunku do dzieci z grupy porównawczej; różnica była istotna statystycznie (percentyl wzrostu NZJ vs K: 38,1 vs 49,9, $p=0,02$; percentyl masy ciała NZJ vs K: 27,8 vs 44,25, $p<0,001$).

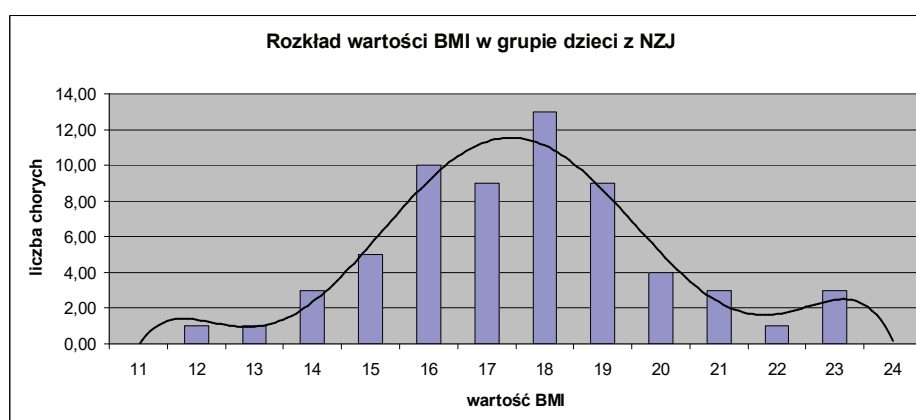
Analizując poszczególne podgrupy chorych, dzieci z ChLC były najniższe i miały najniższą masę ciała, percentyl wzrostu dla chorych z ChLC wynosił średnio 34,27, masy ciała 23,12; w stosunku do grupy porównawczej różnice były istotne statystycznie (odpowiednio $p<0,001$, $p=0,017$).

Dzieci z WZJG były również niższe i szczuplejsze w stosunku do dzieci z grupy porównawczej, jednak różnice nie były istotne statystycznie (odpowiednio $p=0,06$, $p=0,28$). Percentyl wzrostu dla chorych z WZJG wynosił średnio 42,54, masy ciała 33,29, natomiast w grupie porównawczej percentyl wzrostu wynosił średnio 49,89, masy ciała 44,25.

4.1.2.2 Wartość BMI

W grupie badanych z NZJ wartość wskaźnika masy ciała BMI (*Body Mass Index*) wahała się od 12,81 do 23,98 (średnia 18,11, mediana 18,16, SD 2,34), natomiast w grupie porównawczej wartość BMI wahała się w granicach od 14,67 do 24,53 (średnia 18,93, mediana 18,52, SD 2,23).

Wskaźnik BMI w grupie dzieci chorych był niższy niż w grupie porównawczej, lecz nie była to różnica istotna statystycznie ($p=0,067$). Rozkład wartości dla badanego parametru różnił się istotnie statystycznie od rozkładu normalnego ($p=0,049$) (rycina 5).



Rycina 5. Rozkład wartości BMI w grupie dzieci z NZJ

W grupie badanych z ChLC wartość BMI wahała się od 12,81 do 23,18 (średnia 17,8, mediana 17,8, SD 1,86), natomiast w grupie dzieci z WZJG wartość BMI mieściła się w granicach od 13,05 do 23,99 (średnia 18,47, mediana 18,57, SD 2,8). Dzieci z ChLC miały najniższe wartości BMI (ChLC vs K; $p=0,03$, WZJG vs K; $p=0,41$)

Analizując różnice w wartości BMI pod względem płci w podgrupach chorych i w grupie porównawczej, zaobserwowano, iż w grupie dzieci z ChLC chłopcy w stosunku do dziewczynek mieli niższe wartości BMI, a w pozostałych grupach to dziewczynki miały niższy wskaźnik BMI. Ponadto chłopcy z ChLC mieli istotnie statystycznie niższy wskaźnik BMI w porównaniu do chłopców z grupy porównawczej ($p=0,002$).

4.1.2.3 Percentyl BMI

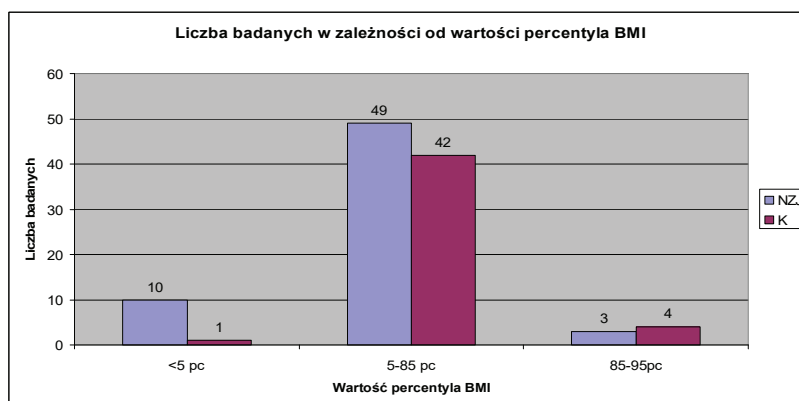
W grupie badanych z NZJ wartość percentyla BMI dla wieku i płci wahała się od 0,1 do 95 (średnia 31,94, mediana 25,5, SD 26,39), natomiast w grupie porównawczej wartość percentyla BMI mieściła się w granicach od 2 do 90 (średnia 44,11, mediana 42, SD 23,34). Rozkład wartości dla badanego parametru różnił się istotnie statystycznie od rozkładu normalnego ($p=0,0007$).

W grupie badawczej wartości percentyla BMI były niższe niż w grupie porównawczej, różnica była istotna statystycznie ($p=0,01$).

Wartości percentyla BMI były najniższe w grupie dzieci z ChLC i wynosiły średnio 26 (ChLC vs K $p<0,05$), w grupie dzieci z WZJG wynosiły średnio 39,15, a w grupie porównawczej były najwyższe i wynosiły średnio 44,1.

Analizując różnice w wartości percentyla BMI pod względem płci w podgrupach chorych i grupie porównawczej, zaobserwowano, iż chłopcy z ChLC mieli statystycznie niższy percentyl BMI w stosunku do dziewcząt z WZJG ($p=0,02$) oraz do chłopców z grupy porównawczej ($p<0,001$). Dziewczynki z grupy porównawczej również miały istotnie statystycznie niższy percentyl BMI w stosunku do chłopców z grupy porównawczej ($p=0,018$).

Dokonano podziału grupy badanych w zależności od percentyla BMI; zdecydowana większość dzieci było prawidłowo odżywiona, uwagę zwraca jedynie przewaga dzieci z NZJ w grupie dzieci niedożywionych w stosunku do grupy porównawczej ($p=0,14$) (rycina 6).



Rycina 6. Liczba badanych w zależności od wartości percentyla BMI

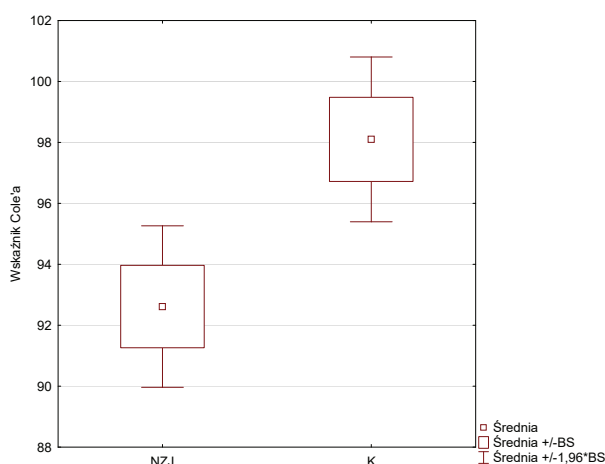
Podobnie, analizując liczbę badanych pod kątem wartości percentyla BMI w podgrupach chorych, wykazano największą grupę dzieci niedożywionych w grupie dzieci z ChLC ($p=0,24$).

Nie zaobserwowano istotnej statystycznie różnicy w wartości percentyla BMI istotnej statystycznie w poszczególnych grupach chorych pod względem płci.

4.1.2.4 Wskaźnik Cole'a

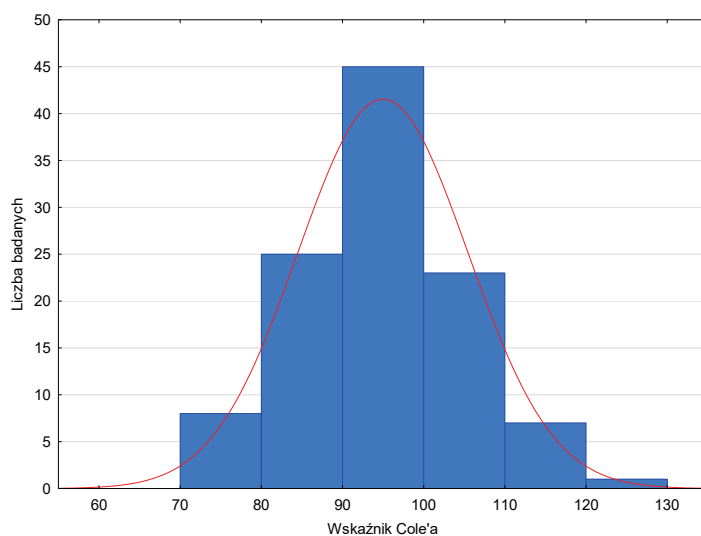
W grupie badanych z NZJ wskaźnik Cole'a wahał się od 73,17% do 119,9% (średnia 92,61%, mediana 92,7%, SD 10,64%), natomiast w grupie porównawczej w granicach od 78,6% do 121,4% (średnia 98,1%, mediana 96,2%, SD 9,5%).

W grupie badawczej wartości współczynnika Cole'a były niższe niż w grupie porównawczej, była to różnica istotna statystycznie ($p=0,006$) (rycina 7).



Rycina 7. Wartości wskaźnika Cole'a w grupie badawczej i porównawczej

Rozkład wartości dla badanego parametru nie różnił się istotnie statystycznie od rozkładu normalnego ($p>0,05$) (rycina 8).



Rycina 8. Rozkład wartości współczynnika Cole'a (%) w grupie pacjentów z NZJ

Biorąc pod uwagę wskaźnik Cole'a w podgrupach chorych najniższą wartość uzyskali pacjenci z ChLC (ChLC vs K; $p < 0,05$), a najwyższą pacjenci z grupy porównawczej.

Zaobserwowano, iż chłopcy z ChLC mieli statystycznie niższy współczynnik Cole'a w stosunku do chłopców z WZJG ($p = 0,02$) oraz w stosunku do chłopców i dziewcząt z grupy porównawczej (odpowiednio $p = 0,04$, $p < 0,001$).

4.1.3 Analiza objawów klinicznych u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania choroby

Spośród analizowanych objawów klinicznych stwierdzonych w momencie rozpoznania choroby najczęstszymi były: ból brzucha, biegunka, osłabienie i obecność krwi w stolcu; obie podgrupy różniły się jedynie częstością występowania krwi w stolcu - objaw ten występował zdecydowanie częściej u chorych z WZJG (u 71,43% chorych vs 58,82% chorych z ChLC; $p = 0,03$) (tabela 17).

Tabela 17. Objawy występujące u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania choroby

Objawy	Liczba chorych z ChLC	Liczba chorych (%) z ChLC	Liczba chorych z WZJG	Liczba chorych (%) z WZJG	Liczba chorych z NZJ (%)	p
Biegunka	20	58,82	20	71,43	64,52	$p = 0,30$
Krew w stolcu	15	44,12	20	71,43	56,45	$p = 0,03$
Bóle brzucha	22	64,71	20	71,43	67,74	$p = 0,57$
Oslabienie	21	61,76	17	60,71	61,29	$p = 0,93$
Spadek masy ciała	15	44,12	16	57,14	50	$p = 0,31$
Bóle stawów	7	20,59	2	7,14	14,52	$p = 0,13$
Gorączka	7	20,59	3	10,71	16,13	$p = 0,29$

4.1.4 Analiza objawów klinicznych u pacjentów z NZJ w momencie przeprowadzenia badania

Spośród analizowanych objawów klinicznych występujących w momencie przeprowadzenia badania najczęstszymi były: bóle brzucha, biegunka i obecność krwi w stolcu. Podobnie jak w momencie rozpoznania obie podgrupy różniły się istotnie jedynie częstością występowania krwi w stolcu - objaw ten występował również zdecydowanie częściej u chorych z WZJG (u 67,86% chorych vs 26,47% chorych z ChLC) ($p = 0,003$) (tabela 18).

Tabela 18. Objawy występujące u pacjentów w momencie przeprowadzenia badania

Objawy	Liczba chorych z ChLC	Liczba chorych (%) z ChLC	Liczba chorych z WZJG	Liczba chorych (%) z WZJG	Liczba chorych (%) z NZJ	p
Biegunka	15	44,12%	20	71,43%	56,45	p=0,057
Krew w stolcu	9	26,47	19	67,86	45,16	p=0,003
Bóle brzucha	31	91,18	27	96,43	93,55	p=0,75
Oslabienie	12	35,29	14	50	41,94	p=0,36
Spadek masy ciała	7	20,59	6	21,43	20,97	p=0,816
Bóle stawów	4	11,76	3	10,71	11,29	p=0,784
Gorączka	5	14,71	6	21,43	17,74	p=0,72

4.1.5 Złamania kości w wywiadzie

W ankiecie przeprowadzonej w momencie rozpoczęcia badania analizowano występowanie złamań kości w wywiadzie. U chorych z NZJ złamania występowały zdecydowanie częściej w porównaniu do dzieci z grupy porównawczej (17,74% vs 6,38%, p=0,079), nie była to jednak różnica istotna statystycznie, a w podgrupie chorych częściej patologia ta dotyczyła chorych z ChLC (20,59% chorych z ChLC vs 14,29% chorych z WZJG vs 6,38% grupy porównawczej; p=0,16), różnica była nieistotna statystycznie (tabela 19).

Tabela 19. Liczba chorych z przebytymi złamaniami kości w wywiadzie

Grupa chorych	Liczba badanych z przebytymi złamaniami kości	Odsetek badanych (%) z przebytymi złamaniami kości
ChLC	7	20,59
WZJG	4	14,29
NZJ	11	17,74
K	3	6,38

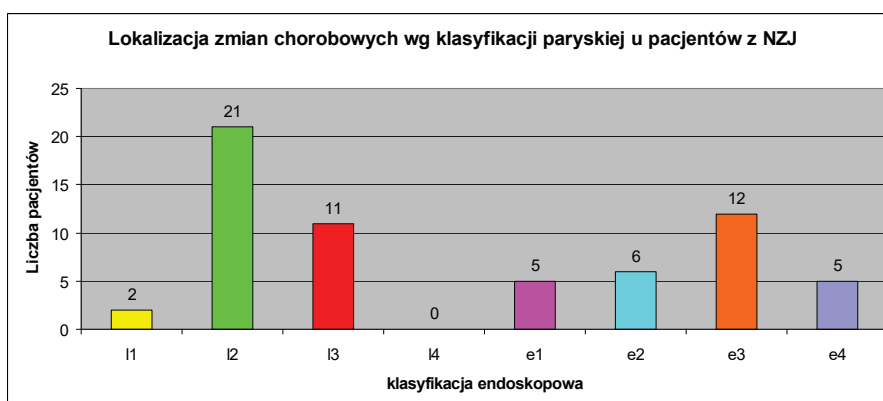
4.1.6 Przebyte zabiegi operacyjne

Wśród chorych z NZJ u 4 dzieci z ChLC i u 1 z WZJG ze względu na powikłania choroby podstawowej zaistniała konieczność przeprowadzenia zabiegu operacyjnego w przeszłości.

4.1.7 Klasyfikacja endoskopowa NZJ

Opierając się na klasyfikacji montrealskiej w modyfikacji paryskiej, pacjentów z NZJ podzielono na grupy w zależności od rozległości zmian chorobowych stwierdzonych w badaniu endoskopowym [182]. Wśród pacjentów z WZJG

przeważała postać rozległa - E3 (zmiany położone dystalnie od zgięcia wątrobowego), rzadziej rozpoznano postać E2 (zmiany położone dystalnie od zgięcia śledzionowego), E1 (ograniczona do odbytnicy) czy E4 (*pancolitis*). U pacjentów z ChLC dominowała postać, w której proces chorobowy dotyczył okrężnicy (L2), rzadziej zmiany chorobowe obejmowały zarówno okrężnicę i jelito kręte (L3), jedynie u dwóch pacjentów proces zapalny dotyczył dystalnej części jelita krętego (L1). Zająćcia górnego odcinka przewodu pokarmowego nie stwierdzono u żadnego z badanych pacjentów z ChLC (L4) (rycina 9).



Rycina 9. Liczba pacjentów w poszczególnych grupach w zależności od rozległości zmian chorobowych stwierdzonych w badaniu endoskopowym

4.1.8 Analiza wyników badań laboratoryjnych

Analizując wyniki badań dodatkowych w grupach dzieci (NZJ, K), wykazano znamienne wyższe stężenie wskaźników stanu zapalnego w grupie badawczej (NZJ) w stosunku do wyników badań dzieci z grupy porównawczej: białko C-reaktywne (CRP) (NZJ vs K: $p=0,04$), liczba białych krwinek (WBC) (NZJ vs K: $p=0,008$), liczba neutrofilii (NZJ vs K: $p=0,03$), liczba płytek krwi (PLT) (NZJ vs K: $p<0,0001$). Ponadto w grupie dzieci chorych wykazano niższe stężenie hemoglobiny (NZJ vs K: $p<0,05$).

Analizując parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej wykazano, że stężenie 25(OH)D było niższe w grupie porównawczej w stosunku do grupy badawczej ($p=0,03$), natomiast stężenie wapnia całkowitego w surowicy krwi było niższe w grupie badawczej ($p<0,001$), pozostałe parametry nie różniły się istotnie między analizowanymi grupami (PTH, P, ALP, wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu). Nie wykazano korelacji między stężeniem witaminy D a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej.

Podobnie, analizując wybrane wskaźniki laboratoryjne oddzielnie w podgrupach chorych - ChLC i WZJG wykazano w stosunku do grupy porównawczej znamienne wyższe stężenie wskaźników stanu zapalnego w grupie dzieci z WZJG w stosunku do wyników badań dzieci z grupy porównawczej: CRP ($p=0,02$), WBC ($p<0,001$), liczba neutrofilii ($p<0,001$). Ponadto zarówno w grupie dzieci z ChLC jak i WZJG wykazano znamienne niższe stężenie hemoglobiny (ChLC vs K: $p<0,001$, WZJG vs K: $p<0,001$) oraz wyższą liczbę płytek krwi (ChLC vs K: $p<0,001$, WZJG vs K: $p<0,001$).

Analizując parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej oddzielnie w podgrupach chorych z NZJ wykazano, że stężenie 25(OH)D było znamienne niższe w grupie porównawczej w stosunku do dzieci z ChLC (ChLC vs K: $p=0,04$), natomiast stężenie wapnia całkowitego w surowicy krwi było znamienne niższe w obydwu podgrupach chorych (ChLC vs K: $p=0,002$, WZJG vs K: $p=0,001$), pozostałe parametry nie różniły się istotnie między dwiema grupami (PTH, P, ALP, wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu) (tabela 20).

Tabela 20. Wyniki badań laboratoryjnych w badanych grupach dzieci

Badany parametr	Wartości referencyjne	Średnia (Zakres)				P			
		ChLC	WZJG	NZJ	K	ChLC vs K	WZJG vs K	NZJ vs K	ChLC vs WZJG
25(OH)D (ng/ml)	(30-50)	20,2 (1-59,1)	19,5 (1-51,9)	19,9 (1-59,1)	16,1 (4,8-88)	0,04	0,11	0,03	0,73
PTH (pg/ml)	(10-62)	24,2 (1-58)	21,8 (1-72)	23,1 (1-72)	21,2 (5-35,6)	0,39	0,86	0,52	0,55
Ca (mg/dl)	(8,4-10,2)	9,7 (8,5-10,7)	9,7 (7,7-10,6)	9,7 (7,7-10,7)	10,1 (9,3-10,8)	0,002	0,001	<0,001	0,77
P (mg/dl)	(2,9-5,1)	4,5 (3,5-6)	4,5 (3,3-6,7)	4,5 (3,3-6,7)	4,6 (3,2-7)	0,51	0,6	0,47	0,93
ALP (U/l)	(<390)	150,6 (65-388)	142,8 (63-248)	147,1 (63-388)	172,02 (59-367)	0,23	0,12	0,1	0,7
wskaźnik Ca-kreat w porcji moczu (mg/mg)	(0,01-0,25)	0,14 (0,01-0,52)	0,2 (0,02-0,78)	0,17 (0,01-0,78)					0,09
CRP (mg/l)	(1-5)	9,9 (1-73)	18,2 (0,9-268)	13,6 (0,9-268)	2,7 (1-69)	0,25	0,02	0,04	0,24
OB (mm/h)	(<10)	29,3 (2-109)	36,3 (2-115)	32,5 (2-115)					0,34
Hct (%)	(K:35-45; M:36-48)	37,9 (32,2-53,2)	37,5 (28-46,5)	37,7 (28-53,2)	38,3 (29-54)	0,52	0,55	0,6	0,75
Alb (g/l)	(38-54)	43,4 (31-52)	42,9 (21-50)	43,2 (21-52)					0,71
WBC (G/l)	(3,5-10)	7,4 (3,01-13,4)	10,2 (4,89-18,9)	8,7 (3,01-18,9)	7,15 (3,78-13,1)	0,65	<0,001	0,007	<0,001
Neu (G/l)	(1,8-7,7)	4,5 (1,4-9,52)	6,6 (2,62-15,7)	5,4 (1,4-15,7)	4,3 (1,19-10,35)	0,69	<0,001	0,03	0,002
Limf (G/l)	(1-5)	1,9 (0,43-4,31)	2,2 (0,87-6,22)	2,03 (0,43-6,22)	2,1 (0,83-4,18)	0,24	0,54	0,68	0,11
Hb (g/dl)	(K:12-15; M:12,5-16,1)	12,2 (10,1-15,2)	12,1 (8,4-15,6)	12,2 (8,4-15,6)	13,6 (11,5-17)	<0,001	<0,001	<0,05	0,51
PLT (G/l)	(125-400)	349,1 (154-555)	375,3 (218-595)	360,9 (154-595)	280,2 (157-551)	<0,001	<0,001	<0,001	0,23

4.1.9 Ocena stanu odżywienia a stężenie albuminy w surowicy krwi u pacjentów z NZJ

U większości pacjentów z NZJ (88,7%) stężenie albuminy we krwi mieściło się w zakresie wartości referencyjnych, jedynie u 11,3% pacjentów z NZJ jej stężenie było poniżej normy. Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem albuminy w podgrupie dzieci z ChLC i WZJG. W całej grupie pacjentów z NZJ nie wykazano korelacji między stężeniem albuminy a stanem odżywienia wyrażonym poprzez wskaźnik BMI, percentyl BMI czy współczynnik Cole'a.

4.1.10 Farmakoterapia w momencie przeprowadzenia badania

W dniu badania większość chorych była leczonych preparatami aminosalicylanów, głównie mesalazyny; w przypadku pacjentów z ChLC aż u 70,59% był to preparat Pentasa, u chorych z WZJG u 67,86% Asamax, niewielka liczba chorych była leczona Salofalkiem lub preparatami sulfasalazyny. Niemal połowa badanych (46,8%) była w momencie analizy w trakcie sterydoterapii, stosowano różne postaci leków sterydowych (prednizon, metyloprednizolon, hydrokortyzon, budezonid). Około 30% (18/62) badanych dzieci było w trakcie leczenia immunosupresyjnego; azatioprynę przyjmowało 13 dzieci z ChLC i 5 z WZJG. U 6 dzieci z ChLC i u 1 z WZJG stosowano leczenie biologiczne (influximab). Inne stosowane leki wymieniono w tabeli 21.

Ponad połowa pacjentów z NZJ (33/62) w momencie włączenia do badania otrzymywała preparaty witaminy D (15 pacjentów z ChLC, 18 pacjentów z WZJG), 5 pacjentów przyjmowało tran oraz 17 pacjentów stosowało preparaty wielowitaminowe. W grupie porównawczej preparaty witaminy D przyjmowało jedynie 7 osób (14,9%), w dawkach 200 - 1000 IU. W momencie badania jedynie 3 pacjentów z NZJ było w trakcie leczenia żywieniowego - 2 osoby z ChLC w trakcie żywienia pozajelitowego oraz 1 pacjent w trakcie żywienia dojelitowego.

Tabela 21. Leki stosowane u chorych z NZJ w momencie przeprowadzenia badania

Nazwa leku	Liczba chorych z ChLC	Liczba chorych (%) z ChLC	Liczba chorych z WZJG	Liczba chorych (%) z WZJG	Liczba chorych (%) z NZJ
Aminosalicylany i pochodne:					
sulfasalazyna	3	8,82%	2	7,14%	8,06%
mesalazyna (Asamax)	2	5,88%	19	67,86%	33,87%
mesalazyna (Pentasa)	24	70,59%	3	10,71%	43,55%
mesalazyna (Salofalk)	2	5,88%	3	10,71%	8,06%
Glikokortykosterydy:					
prednizon	3	8,82%	6	21,43%	14,52%
metylprednizolon	1	2,94%	2	7,14%	4,84%
hydrokortyzon	6	17,65%	1	3,57%	11,29%
budezonid	10	29,41%	0	0	16,13%
Leki immunosupresyjne - azatiopryna	13	38,24%	5	18,52%	29,51%
Lek biologiczny - infliximab	6	17,65%	1	3,57%	11,29%
Liczba dawek leku biologicznego	2,3,6,6		7		
Inhibitory pompy protonowej	5	14,71%	8	28,57%	20,97%
Metronidazol	3	8,82%	4	14,29%	11,29%
Debutir	8	23,53%	3	10,71%	17,74%
Probiotyki	8	23,53%	7	25,00%	24,19%
Preparaty żelaza	4	12,12%	6	21,43%	16,39%
Inne leki ¹	7	21,21%	9	32,14%	26,23%

¹ - inne leki przyjmowane przez pacjentów tj. antybiotyki (amoksylicyna, cefotaksym, wankomycyna), leki przeciwgrzybicze (flukonazol), leki hepatoprotekcyjne (Essentiale forte), kwas urodeoksycholowy, hormony tarczycy (Euthyrox), kwas foliowy, preparaty potasu (Kalipoz), preparaty wapnia, leki przeciwpadaczkowe (Depakine), leki przeciwhistaminowe (Claritine), leki przeciwgrzybicze (Zentel)

4.1.11 Leki stosowane przez pacjentów przed włączeniem do analizy

W ramach terapii przed włączeniem do analizy większość chorych była leczona preparatami aminosalicylanów, głównie mesalazyny; w przypadku pacjentów z ChLC aż u 70,59% był to preparat Pentasa, u chorych z WZJG u większości (85,19%) - Asamax, niewielka liczba chorych była leczona Salofalkiem lub preparatami sulfasalazyny. Prawie 3/4 badanych było w przeszłości leczonych glikokortykosterydami, stosowano różne postaci leków sterydowych (prednizon, metyloprednizolon, hydrokortyzon, budezonid). U prawie połowy dzieci z ChLC stosowano w przeszłości leczenie immunosupresyjne; azatioprynę przyjmowało 16 dzieci z ChLC i 7 z WZJG. U 10 dzieci z ChLC i u 2 z WZJG stosowano leczenie biologiczne (infliximab).

Pozostałe stosowane leki wymieniono w tabeli 22.

Tabela 22. Leki stosowane przez pacjentów przed włączeniem do analizy

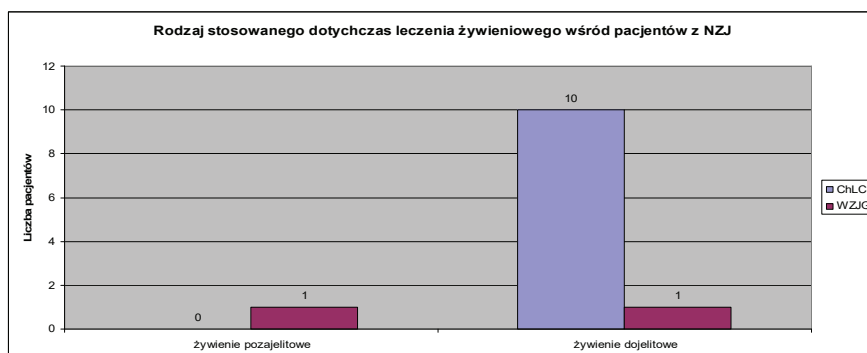
Nazwa leku	Liczba chorych z ChLC	Liczba chorych (%) z ChLC	Liczba chorych z WZJG	Liczba chorych (%) z WZJG	Liczba chorych z NZJ
Aminosalicylany i pochodne:					
sulfasalazyna	4	11,76%	4	14,29%	12,90%
mesalazyna (Asamax)	12	35,29%	23	85,19%	57,38%
mesalazyna (Pentasa)	24	70,59%	3	11,11%	43,5%
mesalazyna (Salofalk)	8	23,53%	5	17,86%	20,97%
Glikokortykosterydy:	30	88,24%	16	57,14%	74,19%
prednizon	19	55,88%	15	53,57%	54,84%
metylprednizolon	12	35,29%	6	21,43%	29,03%
hydrokortyzon	11	32,35%	3	10,71%	22,58%
budezonid	23	67,65%	2	7,14%	40,32%
Leki immunosupresyjne - azatiopryna	16	47,06%	7	25,00%	37,10%
Lek biologiczny - infliksimab	10	29,41%	2	7,14%	19,35%
Inhibitory pompy protonowej	24	70,59%	14	50,00%	61,29%
Metronidazol	20	58,82%	18	64,29%	61,29%
Ciprofloksacyna	5	14,71%	5	17,86%	16,13%
Probiotyki	26	76,47%	17	60,71%	69,35%
Debutir	12	35,29%	7	25,00%	30,65%
Preparaty żelaza	19	55,88%	13	46,43%	51,61%
Inne leki ¹	23	67,65%	18	64,3%	66,12%

¹ - inne leki przyjmowane przez pacjentów tj. antybiotyki (amoksycylina, amoksycylina a kwasem klawulonowym, meropenem, cefotaksym, klarytromycyna, sulfametoksazol z trimetoprimem), leki przeciwgrzybicze (flukonazol), leki antyhistaminowe (lewocyteryzyna, ranitydina), preparaty potasu (kalipoz), preparaty wapnia, enzymy trzustkowe (Kreon), leki hepatoprotekcyjne (Essentiale forte), kwas ursodeoksycholowy, leki przeciwbólowe (Paracetamol, Pyralgina, Naproxen), preparaty wpływające na motorykę przewodu pokarmowego (Smecta, Debridat, Bisakodyl, Fortrans, laktuloza), kwas foliowy, hormony tarczycy (Euthyrox), leki przeciepadaczkowe (Depakine), leki przeciwnadciśnieniowe (Tritace, Furosemid, Verospiron), leki przeciwdepresyjne (mianseryna, sulpiryd, sertralina), hydrokoryzyna

Połowa pacjentów z NZJ stosowała w przeszłości preparaty witaminy D - 18 pacjentów z ChLC i 13 pacjentów z WZJG.

W ramach leczenia przed włączeniem do badania sterydy stosowano u 74% pacjentów z NZJ; średnia wielkość przyjętej dawki w przeliczeniu na mg prednizonu to 3064,24 mg (mediana 2170 mg, min 0 mg, max 18360 mg, SD 3768,47 mg).

Przed włączeniem do badania stosowano również leczenie żywieniowe; żywienie dojelitowe u 10 osób z ChLC i 1 z WZJG oraz żywienie pozajelitowe u 1 pacjenta z WZJG (rycina 10).

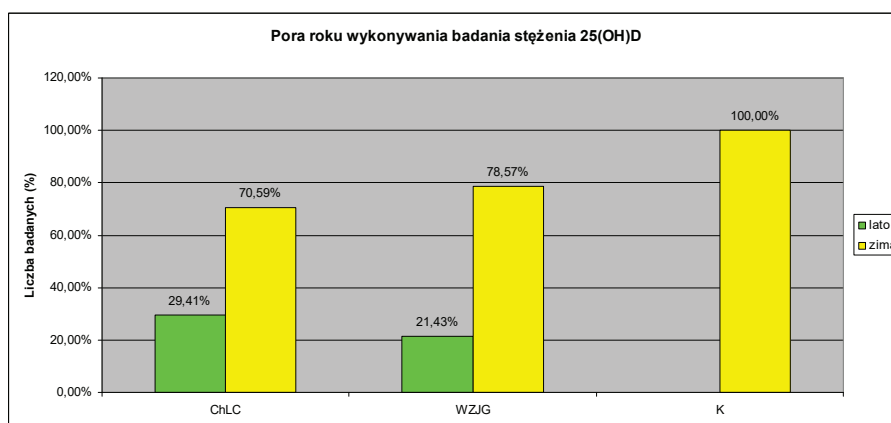


Rycina 10. Rodzaj stosowanego dotychczas leczenia żywieniowego wśród pacjentów z NZJ

4.1.12 Pora roku w momencie wykonywania badania

Badanie stężenia 25(OH)D było wykonywane u pacjentów w różnych porach roku. Przyjęto dwa przedziały czasowe: zima - miesiące, w których wg obowiązujących rekomendacji dotyczących suplementacji witaminy D jej podaż jest zalecana (wrzesień, październik, listopad, grudzień, styczeń, luty, marzec, kwiecień) oraz lato - miesiące, w których podaż witaminy D jest uzależniona od odpowiedniej ekspozycji na promieniowanie słoneczne (maj, czerwiec, lipiec, sierpień) [3].

Większość osób z grupy badawczej miało wykonywane badanie stężenia 25(OH)D w okresie zimowym, podobnie w grupie porównawczej (rycina 11).



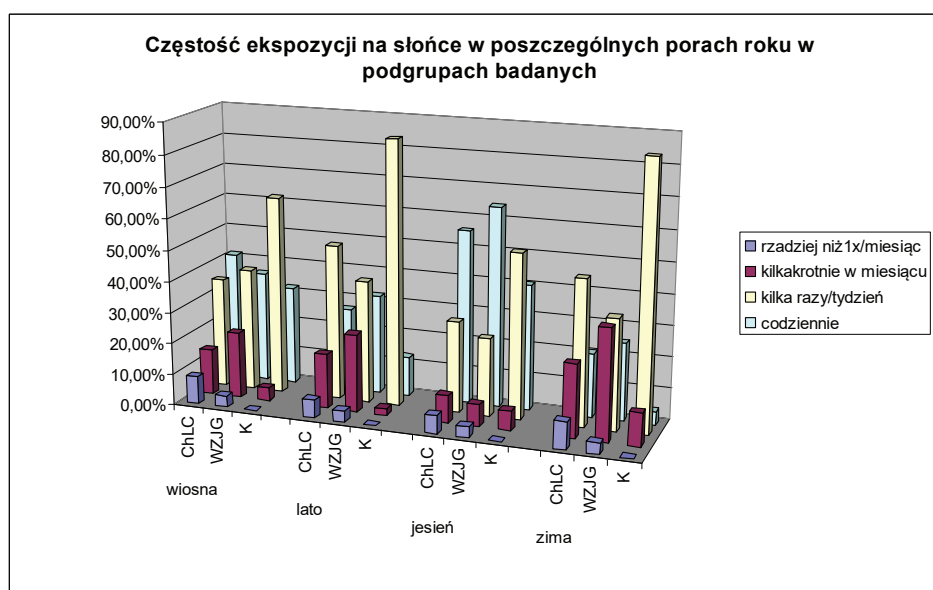
Rycina 11. Pora roku, w której wykonano oznaczenie stężenia 25(OH)D w surowicy krwi.

4.1.13 Czas od momentu rozpoznania choroby do chwili włączenia do badania

Średni okres, który upłynął od momentu rozpoznania choroby do przeprowadzenia niniejszej analizy u pacjentów z ChLC wynosił 29 miesięcy (mediana 19,5 miesięcy, min 0, max 139,6 miesięcy), a w przypadku chorych z WZJG był znacznie krótszy i wynosił średnio 16 miesięcy (mediana 7,5 miesięcy, min 0, max 116,5 miesięcy).

4.1.14 Ekspozycja na słońce

Wśród dzieci z grupy badawczej i porównawczej na podstawie odpowiednio sformułowanych pytań analizowano jak często eksponują oni na światło słoneczne: ręce, przedramiona i twarz przez minimum 30 minut dziennie w różnych porach roku. Częstość ekspozycji na słońce, pomiędzy grupami, była istotnie statystycznie różna w porach roku wiosna, jesień, zima (rycina 12). Regularna ekspozycja na słońce (tj. codziennie lub kilka razy w tygodniu) miała miejsce znacznie częściej w grupie kontrolnej w porównaniu do grupy badawczej. Różnica była najmniejsza latem (rycina 12, tabela 23).



Rycina 12. Częstość ekspozycji na słońce w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych

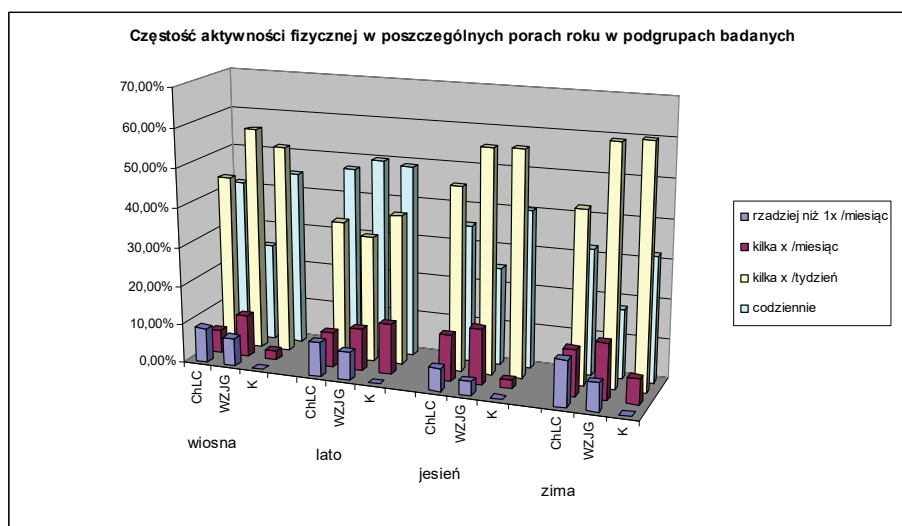
Tabela 23. Częstość ekspozycji na słońce w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych

Pora roku	Grupa chorych	codziennie	kilka razy/tydzień	kilka razy/miesiąc	rzadziej niż 1x/miesiąc	codziennie i kilka razy/tydzień	p
wiosna	ChLC	41,18%	35,29%	14,71%	8,82%	76,47%	0,038
	WZJG	35,71%	39,29%	21,43%	3,57%	75,00%	
	K	31,91%	63,83%	4,26%	0,00%	95,74%	
jesień	ChLC	26,47%	50,00%	17,65%	5,88%	76,47%	0,002
	WZJG	32,14%	39,29%	25,00%	3,57%	71,43%	
	K	12,77%	85,11%	2,13%	0,00%	97,88%	
lato	ChLC	55,88%	29,41%	8,82%	5,88%	85,29%	0,144
	WZJG	64,29%	25,00%	7,14%	3,57%	89,29%	
	K	40,43%	53,19%	6,38%	0,00%	93,62%	
zima	ChLC	20,59%	47,06%	23,53%	8,82%	67,65%	0,0015
	WZJG	25,00%	35,71%	35,71%	3,57%	60,71%	
	K	4,26%	85,11%	10,64%	0,00%	89,37%	

4.1.15 Aktywność fizyczna

Wśród dzieci z grupy badawczej i porównawczej analizowano jak często uprawiają aktywność fizyczną przez co najmniej 30 minut dziennie w różnych porach roku. Aktywność fizyczna uprawiana codziennie lub kilka razy w tygodniu miała miejsce częściej w grupie porównawczej w stosunku do grupy badawczej (rycina 13, tabela 24). We wszystkich porach roku za wyjątkiem lata aktywność fizyczna codzienna lub kilka razy w tygodniu miała miejsce częściej w grupie porównawczej w stosunku do grupy badawczej, latem częstość aktywności fizycznej w obu grupach była porównywalna.

Żadna z tych różnic nie spełniała jednak kryterium istotności statystycznej (rycina 13, tabela 24).



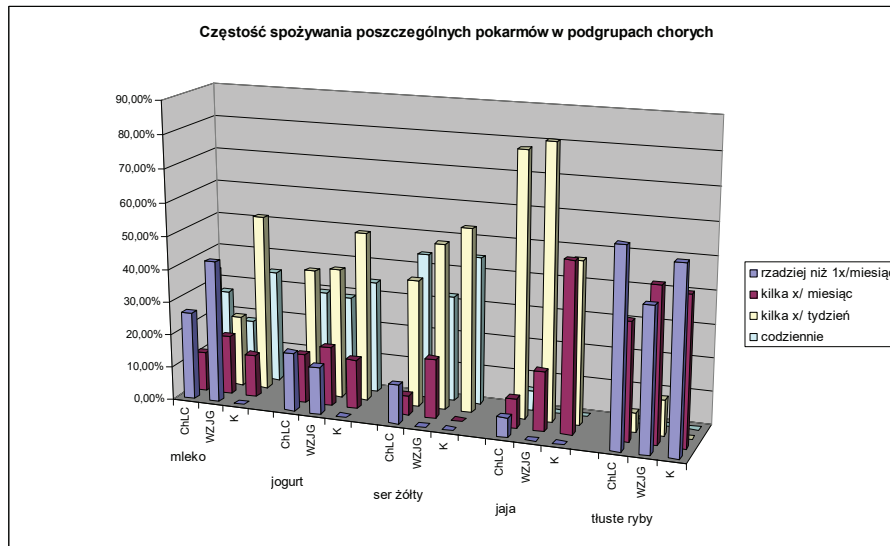
Rycina 13. Częstość aktywności fizycznej w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych

Tabela 24. Częstość aktywności fizycznej w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych

Porę roku	Grupa chorych	codziennie	kilka razy /tydzień	kilka razy /miesiąc	rzadziej niż 1x /miesiąc	codziennie i kilka razy/tydzień	p
wiosna	ChLC	41,18%	44,12%	5,88%	8,82%	85,30%	0,12
	WZJG	25,00%	57,14%	10,71%	7,14%	82,14%	
	K	44,68%	53,19%	2,13%	0,00%	97,87%	
lato	ChLC	47,06%	35,29%	8,82%	8,82%	82,35%	0,39
	WZJG	50,00%	32,14%	10,71%	7,14%	82,14%	
	K	48,94%	38,30%	12,77%	0,00%	87,24%	
jesień	ChLC	35,29%	47,06%	11,76%	5,88%	82,35%	0,09
	WZJG	25,00%	57,14%	14,29%	3,57%	82,14%	
	K	40,43%	57,45%	2,13%	0,00%	97,88%	
zima	ChLC	32,35%	44,12%	11,76%	11,76%	76,47%	0,17
	WZJG	17,86%	60,71%	14,29%	7,14%	78,57%	
	K	31,91%	61,70%	6,38%	0,00%	93,61%	

4.1.16 Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w analizowanych grupach dzieci

Wśród dzieci z grupy badawczej i porównawczej analizowano jak często spożywają produkty bogate w witaminę D i wapń (mleko, jogurt, ser żółty, jaja, tłuste ryby). Mleko, jogurt i ser żółty były spożywane częściej przez dzieci z grupy porównawczej w stosunku do dzieci z grupy badawczej, natomiast jaja częściej spożywały dzieci z grupy badawczej. Tłuste ryby były spożywane sporadycznie we wszystkich analizowanych podgrupach dzieci (rycina 14, tabela 25).



Rycina 14. Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w podgrupach chorych

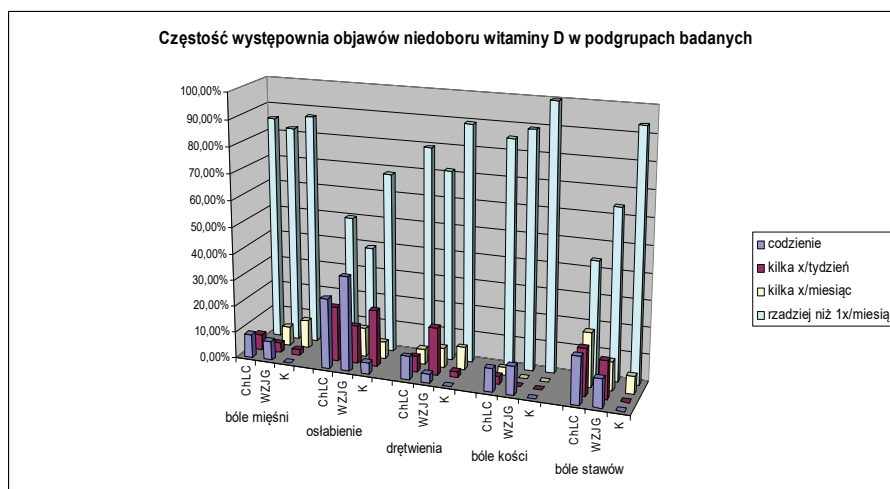
Tabela 25. Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w podgrupach chorych

Spożywany pokarm	Grupa chorych	Codziennie	kilka razy/tydzień	kilka razy/miesiąc	rzadziej niż 1x/miesiąc	codziennie i kilka razy/tydzień	p
mleko	ChLC	26,47%	35,29%	11,76%	26,47%	61,76%	<0,001
	WZJG	17,86%	21,43%	17,86%	42,86%	39,29%	
	K	34,04%	53,19%	12,77%	0,00%	87,23%	
jogurt	ChLC	29,41%	38,24%	14,71%	17,65%	67,65%	0,049
	WZJG	28,57%	39,29%	17,86%	14,29%	67,86%	
	K	34,04%	51,06%	14,89%	0,00%	85,10%	
ser żółty	ChLC	44,12%	38,24%	5,88%	11,76%	82,36%	0,02
	WZJG	32,14%	50,00%	17,86%	0,00%	82,14%	
	K	44,68%	55,32%	0,00%	0,00%	100,00%	
jaja	ChLC	5,88%	79,41%	8,82%	5,88%	85,29%	0,001
	WZJG	0,00%	82,14%	17,86%	0,00%	82,14%	
	K	0,00%	48,94%	51,06%	0,00%	48,94%	
tłuste ryby	ChLC	0,00%	5,88%	35,29%	58,82%	5,88%	<0,001
	WZJG	0,00%	10,71%	46,43%	42,86%	10,71%	
	K	0,00%	0,00%	44,68%	55,32%	0,00%	

4.1.17 Częstość występowania objawów mogących sugerować niedobór witaminy D w analizowanych podgrupach dzieci

Wśród dzieci z grupy badawczej i porównawczej analizowano jak często występują u nich objawy mogące sugerować niedobór witaminy D - bóle mięśni, osłabienie, drętwienia kończyn, bóle kości oraz bóle stawów. Najczęściej zgłaszanym objawem w grupie chorych z NZJ było osłabienie; codziennie lub kilka razy/tydzień osłabienie zgłaszało 47,06% chorych z ChLC i 50% chorych z WZJG, w porównaniu do 25% chorych z grupy porównawczej. Pozostałe objawy (bóle mięśni, bóle kości, bóle

stawów, drętwienia) były u większości chorych zgłaszane jedynie sporadycznie, choć bóle stawów deklarowano istotnie częściej w grupie dzieci z ChLC i WZJG w stosunku do grupy porównawczej ($p < 0,001$) (rycina 15, tabela 26).



Rycina 15. Częstość występowania objawów niedoboru witaminy D w podgrupach badanych

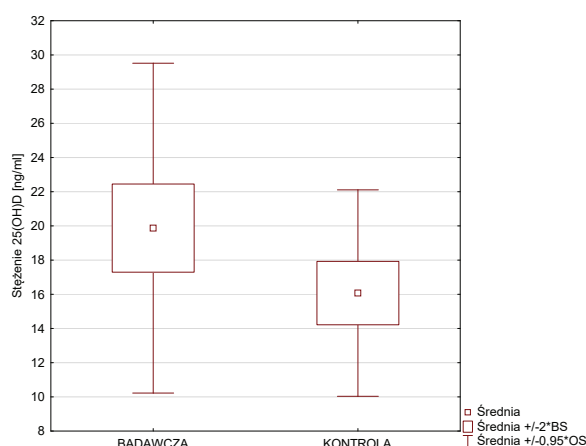
Tabela 26. Częstość występowania objawów niedoboru witaminy D w podgrupach badanych

Objaw	Grupa chorych	Codzienne	kilka razy /tydzień	kilka razy /miesiąc	rzadziej niż 1x/miesiąc	Codziennie i kilka razy /tydzień	p
Bóle mięśni	ChLC	8,82%	5,88%	0,00%	85,29%	14,70%	0,06
	WZJG	7,14%	3,57%	7,14%	82,14%	10,71%	
	K	0,00%	2,13%	10,64%	87,23%	2,13%	
Osłabienie	ChLC	26,47%	20,59%	2,94%	50,00%	47,06%	0,02
	WZJG	35,71%	14,29%	10,71%	39,29%	50,00%	
	K	4,26%	21,28%	6,38%	68,09%	25,54%	
Drętwienia	ChLC	8,82%	5,88%	5,88%	79,41%	14,70%	0,08
	WZJG	3,57%	17,86%	7,14%	71,43%	21,43%	
	K	0,00%	2,13%	8,51%	89,36%	2,13%	
Bóle kości	ChLC	8,82%	2,94%	2,94%	85,29%	11,76%	0,06
	WZJG	10,71%	0,00%	0,00%	89,28%	10,71%	
	K	0,00%	0,00%	0,00%	100,00%	0,00%	
Bóle stawów	ChLC	17,65%	17,65%	20,59%	44,12%	35,30%	<0,001
	WZJG	10,71%	14,29%	10,71%	64,29%	25,00%	
	K	0,00%	0,00%	6,38%	93,62%	0,00%	

4.2 Stężenie 25(OH)D w surowicy krwi w analizowanych grupach dzieci

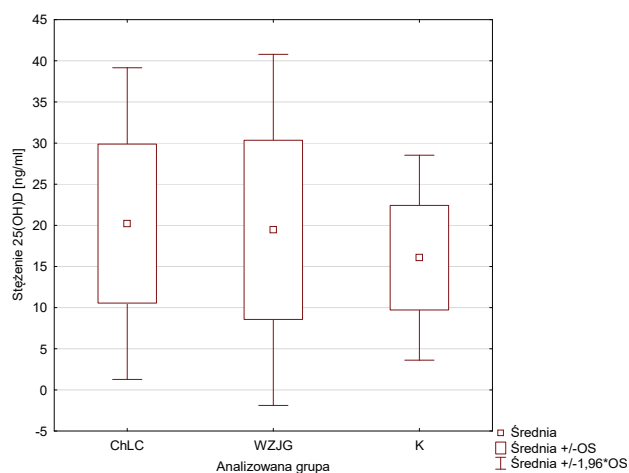
Ocenę stężenia witaminy D w surowicy krwi przeprowadzono u 109 dzieci. Wartości wahały się od 1 do 59,1 ng/ml (średnio 18,23 ng/ml, mediana 16,9 ng/ml, SD 8,89 ng/ml).

Średnie stężenie witaminy D w grupie badawczej wynosiło średnio 19,87 ng/ml (mediana 18,1 ng/ml, min 1 ng/ml, max 59,1 ng/ml, SD 10,15 ng/ml) i było wyższe niż w grupie porównawczej, gdzie wynosiło średnio 16,07 ng/ml (mediana 15,5 ng/ml, min 5 ng/ml, max 35,6 ng/ml, SD 6,35 ng/ml); różnica była istotna statystycznie ($p=0,03$) (rycina 16).



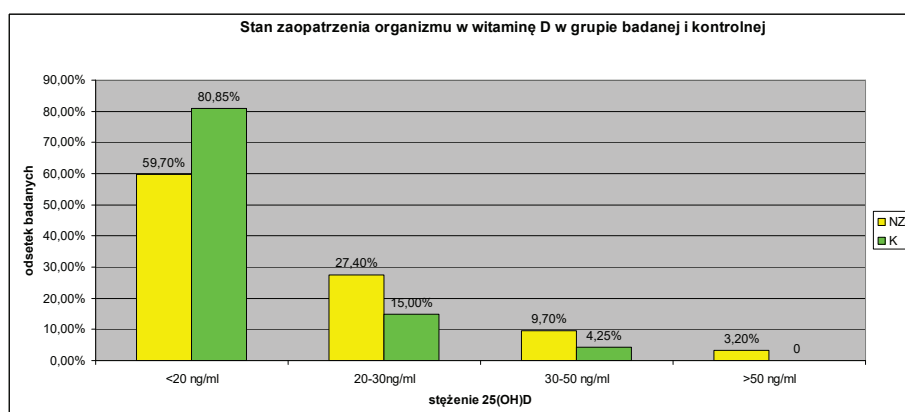
Rycina 16. Stężenie witaminy D w grupie badawczej i porównawczej

Porównując wyniki uzyskane w podgrupach chorych najwyższe stężenie witaminy D w surowicy krwi stwierdzono w grupie dzieci z ChLC (średnio 20,21 ng/ml), nieznacznie niższe u chorych z WZJG (średnio 19,45 ng/ml), a najniższe w grupie porównawczej (średnio 16,07 ng/ml) (rycina 17) (ChLC vs K: $p=0,06$, WZJG vs K: $p=0,64$). Nie były to jednak różnice istotne statystycznie.



Rycina 17. Stężenie witaminy D w analizowanych podgrupach dzieci

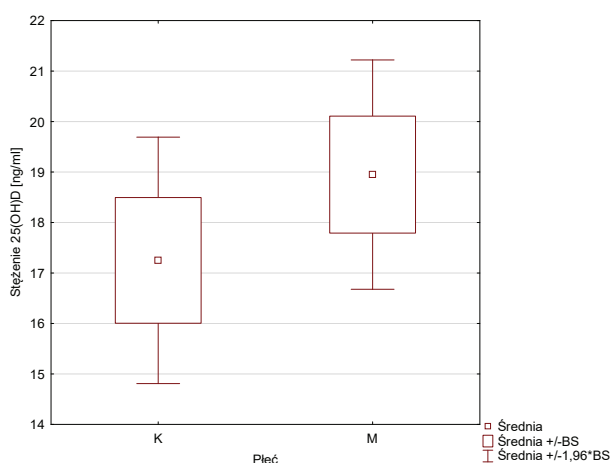
U zdecydowanej większości analizowanych, zarówno w grupie badawczej (59,7%) jak i porównawczej (80,85%) stwierdzono niedobór witaminy D określony jako stężenie 25(OH)D poniżej 20 ng/ml; stężenie suboptymalne określane jako w granicach 20-30 ng/ml stwierdzono u 27,4% chorych z NZJ i u 15% dzieci z grupy porównawczej, natomiast stężenie prawidłowe (30-50 ng/ml) stwierdzono jedynie u 9,7% dzieci z NZJ i 4,25% dzieci z grupy porównawczej. U dwójki dzieci z NZJ stwierdzono stężenie witaminy D powyżej 50 ng/ml (rycina 18).



Rycina 18. Stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D w grupie badanej i porównawczej

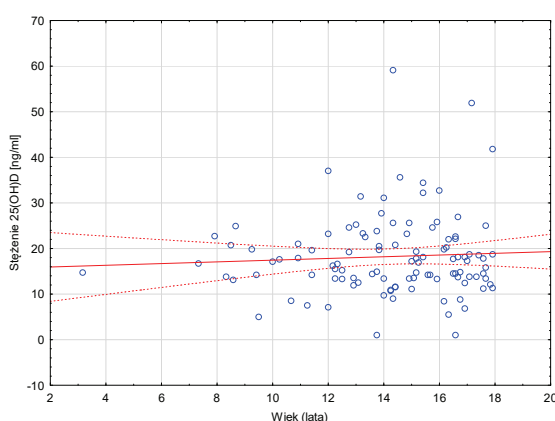
4.2.1 Stężenie witaminy D a płeć i wiek badanych

Biorąc pod uwagę całą analizowaną grupę dzieci (109 osób, NZJ + K) wykazano, że średnie stężenie witaminy D wynosiło 18,23 ng/ml (min 1 ng/ml, max 59,1 ng/ml, mediana 16,9 ng/ml, SD 8,89 ng/ml) i było nieznacznie niższe u dziewczynek (17,25 ng/ml) w stosunku do chłopców (18,95 ng/ml), różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,322$) (rycina 19).



Rycina 19. Stężenie witaminy D w zależności od płci w całej analizowanej grupie dzieci (NZJ + K) (109 osób)

W grupie dzieci z NZJ średnie stężenie witaminy D u dziewcząt wynosiło 18,62 ng/ml, a u chłopców było wyższe i wynosiło 20,61 ng/ml (różnica nie była istotna statystycznie, $p=0,27$), natomiast u dzieci w grupie porównawczej średnie stężenie witaminy D w grupie dziewcząt wynosiło 15,88 ng/ml, a u chłopców również było wyższe i wynosiło 16,25 ng/ml (różnica nie była istotna statystycznie, $p=0,87$). Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy wartości stężenia witaminy D w zależności od wieku w całej badanej grupie dzieci ($R= -0,004$, $p=0,966$) (rycina 20).



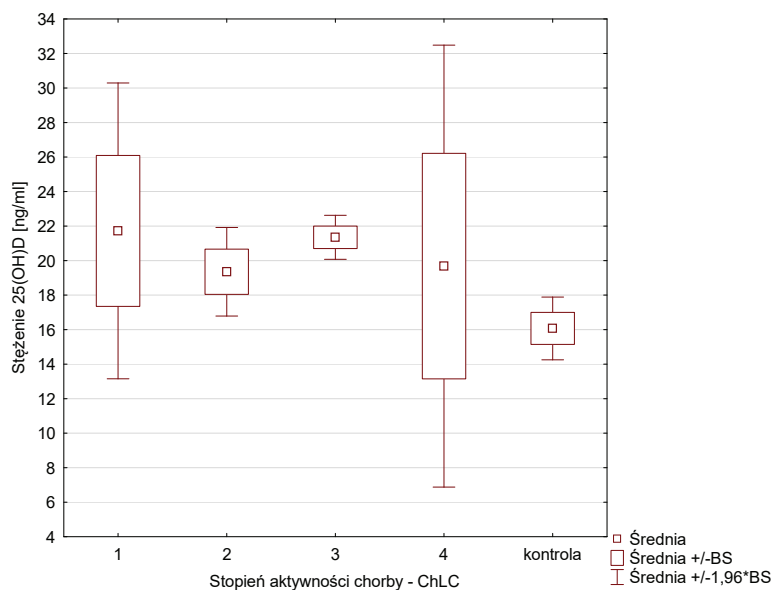
Rycina 20. Zależność stężenia witaminy D (ng/ml) od wieku badanych

4.2.2 Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ z różną aktywnością choroby (NZJ) oraz w porównaniu z grupą kontrolną (porównawczą)

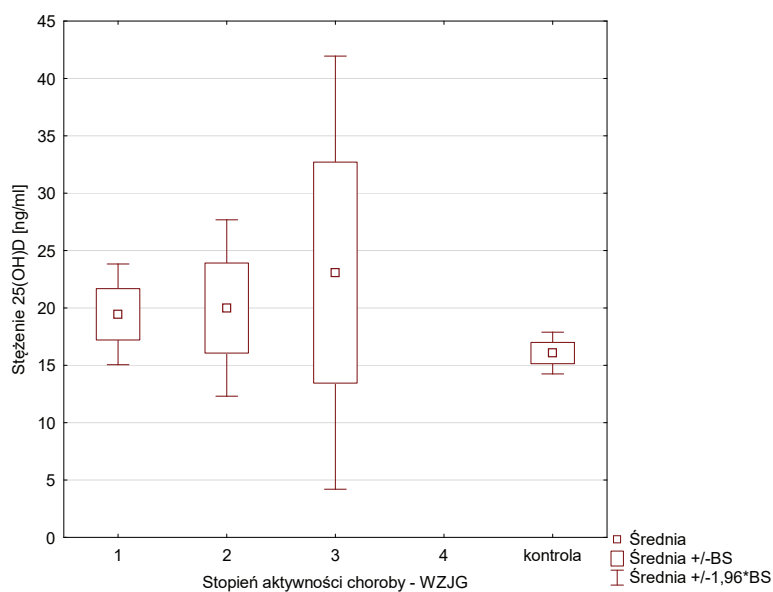
Analizując stężenie 25(OH)D u pacjentów z NZJ w różnych stadiach aktywności choroby, wykazano najwyższe jej stężenie u chorych z WZJG w ciężkiej postaci choroby (23,07 ng/ml), a najniższe w łagodnej postaci ChLC (19,35 ng/ml) (tabela 27, rycina 21, 22). Różnice nie były istotne statystycznie.

Tabela 27. Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ z różną aktywnością choroby oraz porównanie z wartościami w grupie porównawczej

Aktywność choroby	Średnie stężenie 25(OH)D (ng/ml)	Liczba pacjentów	SD	p (chorzy vs K)
ChLC - 1	21,72	10	13,827	>0,05
ChLC - 2	19,35	17	5,401	>0,05
ChLC - 3	21,35	2	0,919	>0,05
ChLC - 4	19,68	5	14,609	>0,05
WZJG - 1	19,44	9	6,72	>0,05
WZJG - 2	19,99	10	12,402	>0,05
WZJG - 3	23,08	4	19,26	>0,05
K	16,07	47	6,354	



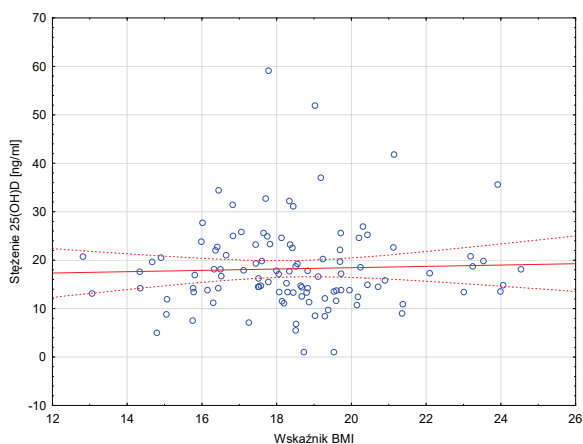
Rycina 21. Stężenie witaminy D u pacjentów z ChLC z różną aktywnością choroby i w grupie porównawczej



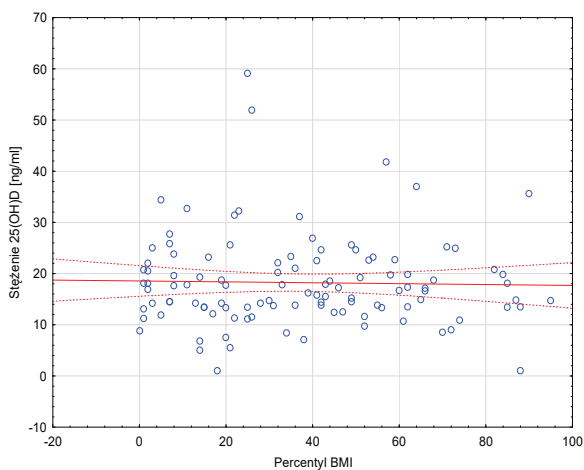
Rycina 22. Stężenie witaminy D u pacjentów z WZJG z różną aktywnością choroby i w grupie porównawczej

4.2.3 Stężenie witaminy D a stan odżywienia u pacjentów z NZJ

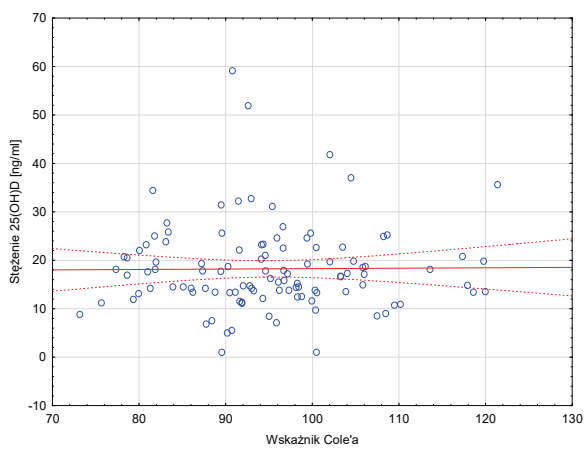
Nie wykazano korelacji między stężeniem 25(OH)D a stanem odżywienia dzieci z NZJ (ChLC, WZJG) wyrażonym wskaźnikiem BMI, percentylem BMI i współczynnikiem Cole'a (odpowiednio $R=0,06$, $R=0,062$, $R=0,096$) (rycina 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31).



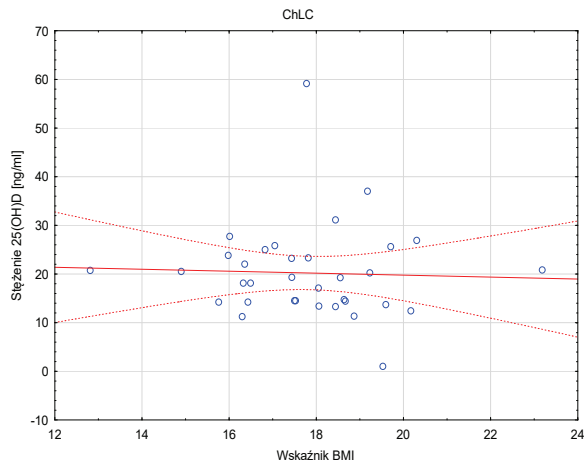
Rycina 23. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z NZJ oraz między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z NZJ



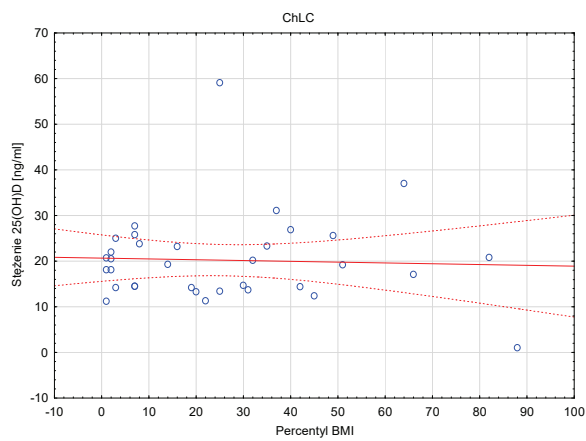
Rycina 24. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z NZJ



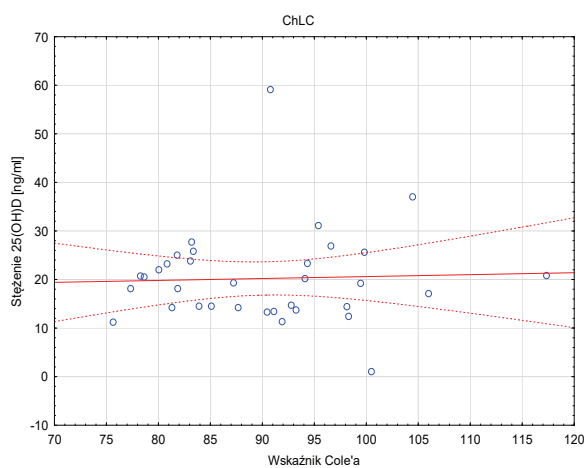
Rycina 25. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z NZJ



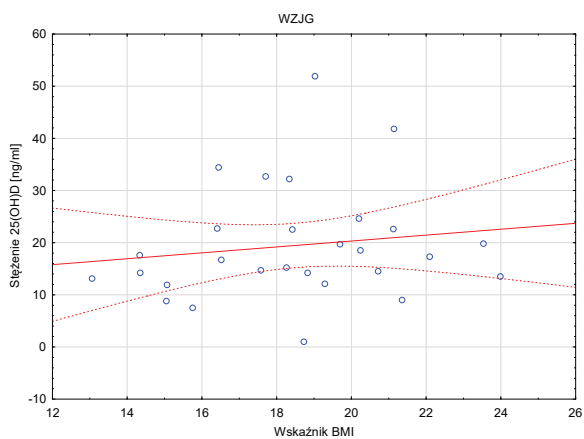
Rycina 26. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z ChLC



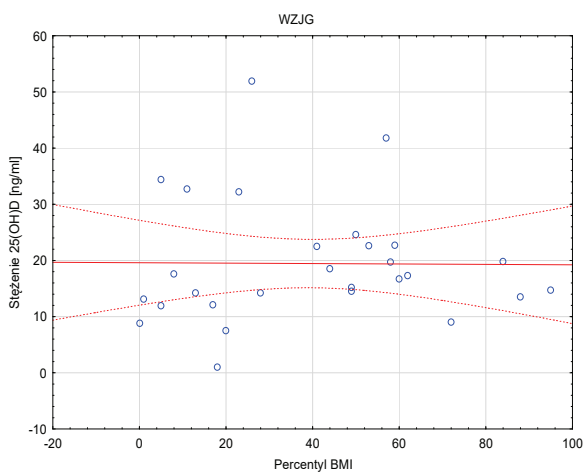
Rycina 27. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z ChLC



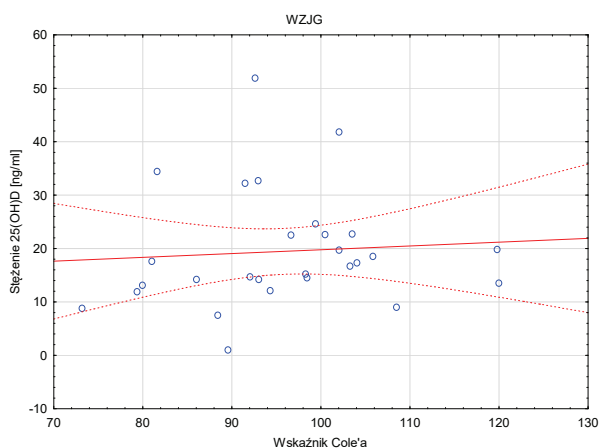
Rycina 28. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z ChLC



Rycina 29. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z WZJG



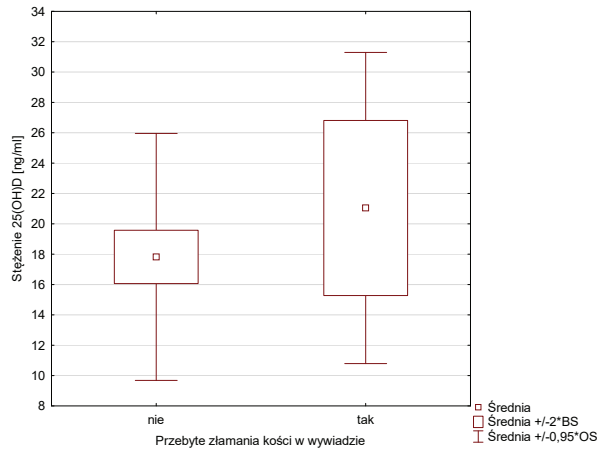
Rycina 30. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z WZJG



Rycina 31. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z WZJG

4.2.4 Stężenie witaminy D a złamania kości w wywiadzie u pacjentów z NZJ

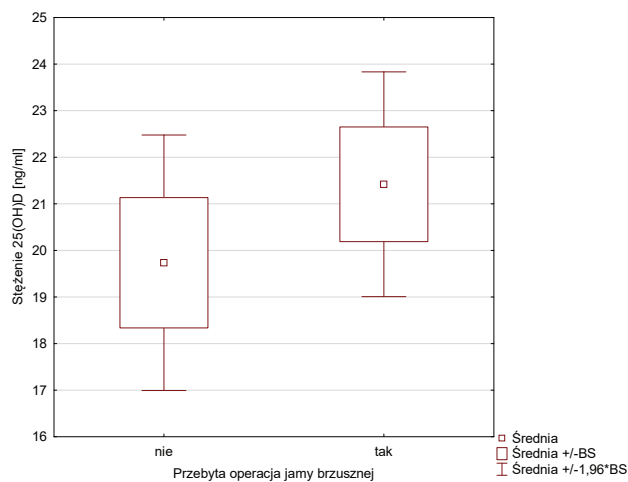
Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy 25(OH)D w surowicy krwi dzieci z NZJ w zależności od obecności złamań kości w wywiadzie (rycina 32) ($p=0,37$).



Rycina 32. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ w zależności od przebytych złamań kości w wywiadzie.

4.2.5 Stężenie witaminy D a zabiegi operacyjne w wywiadzie u pacjentów z NZJ

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D w surowicy krwi u dzieci z NZJ, a procedurami chirurgicznymi wykonanymi ze względu na powikłania choroby podstawowej w wywiadzie (19,73 vs 21,42 ng/ml, $p=0,35$) (rycina 33).

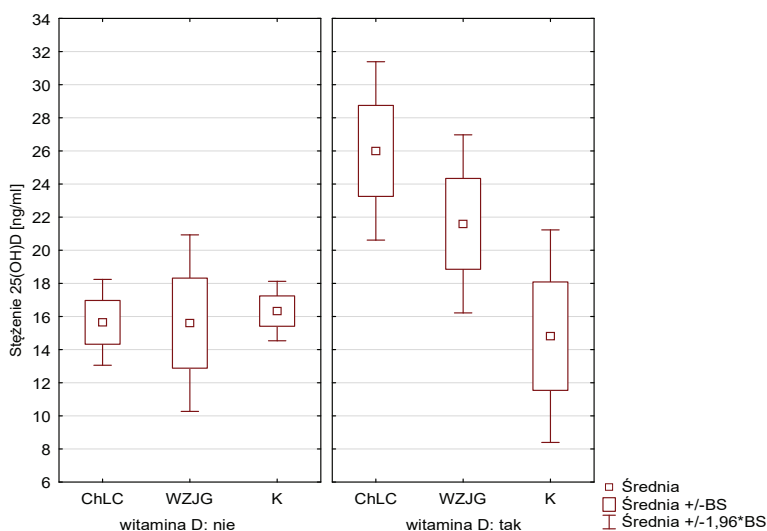


Rycina 33. Stężenie witaminy D a zabiegi operacyjne w wywiadzie u pacjentów z NZJ.

4.2.6 Stężenie witaminy D a jej suplementacja

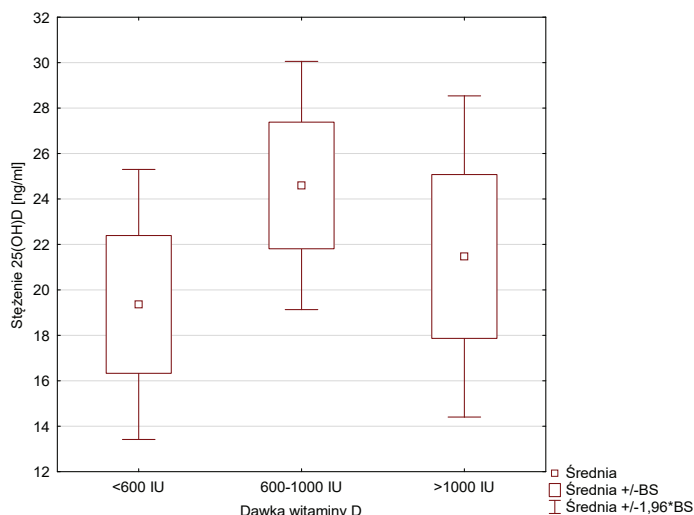
Średnie stężenie witaminy 25(OH)D w całej grupie dzieci (NZJ, K) stosujących jej suplementację wynosiło 21,89 ng/ml (mediana 19,8 ng/ml, min 5 ng/ml, max 59,1 ng/ml, SD 11,34 ng/ml), a w grupie dzieci, które nie stosowały suplementacji 16,03 ng/ml (mediana 14,85 ng/ml, min 1 ng/ml, max 32,2 ng/ml, SD 6,12 ng/ml). Różnica była istotna statystycznie ($p=0,005$).

Średnie stężenie w grupie dzieci stosującej suplementację (niezależnie od dawki witaminy D) i chorujących na ChLC wynosiło 26 ng/ml, chorujących na WZJG wynosiło 21,59 ng/ml, a w grupie porównawczej stosującej suplementację wynosiło 14,81 ng/ml. W grupie dzieci nie stosujących suplementacji z ChLC wynosiło 15,65 ng/ml, z WZJG 15,6 ng/ml a w grupie porównawczej 16,33 ng/ml (rycina 34). Wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenie witaminy 25(OH)D w grupie dzieci z ChLC stosującej suplementację w stosunku do grupy dzieci nie przyjmujących witaminy D (ChLC sup vs ChLC bez supl: $p<0,001$, ChLC sup vs WZJG bez supl: $p=0,003$, ChLC sup vs K bez supl: $p<0,001$) oraz w stosunku do osób z grupy porównawczej stosujących suplementację witaminą D (ChLC sup vs K sup: $p=0,002$).



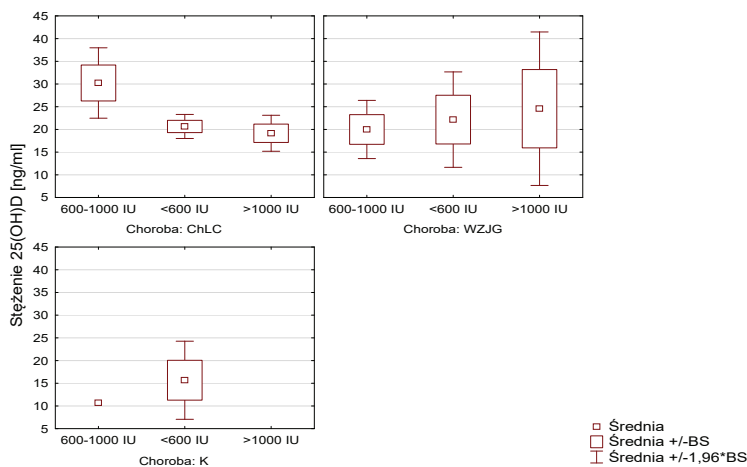
Rycina 34. Stężenie witaminy D w zależności od stosowanej suplementacji witaminy D

Dawka przyjmowanej codziennie witaminy D we wszystkich grupach badanych wahała się od 200 IU do 6000 IU. Przeanalizowano stężenie 25(OH)D w surowicy krwi w zależności od przyjmowanej dawki witaminy D. Najwyższe stężenie witaminy 25(OH)D zaobserwowano przy suplementacji witaminy D w dawce 600-1000 IU/dobę, jednak różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,199$, $p=0,69$) (rycina 35).



Rycina 35. Stężenie witaminy D w zależności od suplementowanej dawki dobowej w całej grupie badanej (NZJ+K)

Analizując stężenie witaminy D w podgrupach pacjentów najwyższe stężenie witaminy D uzyskano w grupie pacjentów z ChLC suplementowanej witaminą D w dawce 600-1000 IU, różnice pomiędzy poszczególnymi podgrupami (ChLC, WZJG, K) nie były istotne statystycznie (rycina 36).

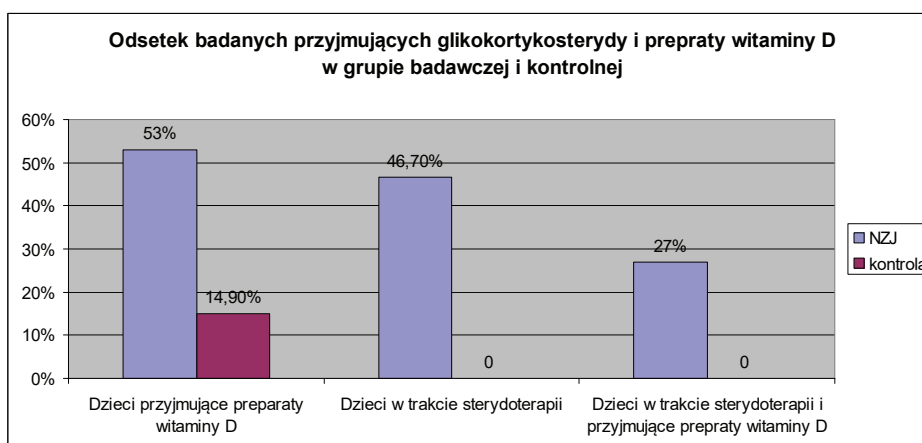


Rycina 36. Stężenie witaminy D w zależności od suplementowanej dawki w poszczególnych podgrupach badanych

4.2.7 Stężenie witaminy D a przyjmowane leki w grupie pacjentów z NZJ

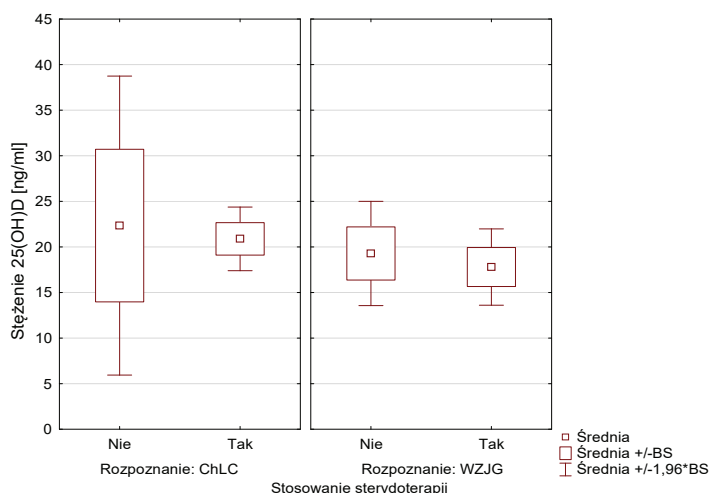
4.2.7.1 Stężenie witaminy D a stosowane glikokortykosterydy

W grupie dzieci z NZJ 29 osób (46,7%) było w trakcie sterydoterapii a 33 osoby (53%) przyjmowały preparaty witaminy D. Jednak tylko 17 pacjentów (27%) jednocześnie było w trakcie sterydoterapii i suplementacji witaminą D. W grupie porównawczej jedynie 7 osób (14,9%) przyjmowało preparaty witaminy D (rycina 37).



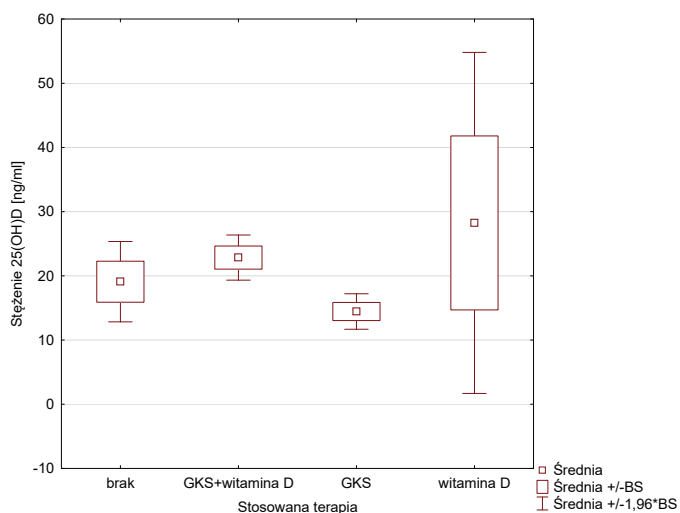
Rycina 37. Odsetek badanych przyjmujących sterydy i preparaty witaminy D w grupie badawczej i porównawczej

Stężenie witaminy D w grupie dzieci przyjmujących sterydy (średnie stężenie witaminy D u ChLC=20,8 ng/ml, WZJG=17,8 ng/ml) było nieznacznie niższe w porównaniu do grupy dzieci, u których nie stosowano tego typu leczenia (średnie stężenie witaminy D u ChLC=22,3 ng/ml, WZJG=19,28 ng/ml), jednakże różnica nie była istotna statystycznie ($p>0,05$) (rycina 38).



Rycina 38. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących sterydy i bez sterydoterapii

Analizując stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ przyjmujących glikokortykosterydy i preparaty witaminy D wykazano statystycznie istotnie niższe stężenie witaminy D u dzieci przyjmujących jedynie sterydy w stosunku do dzieci przyjmujących równocześnie glikokortykosterydy i preparaty witaminy D ($p=0,006$) (rycina 39).



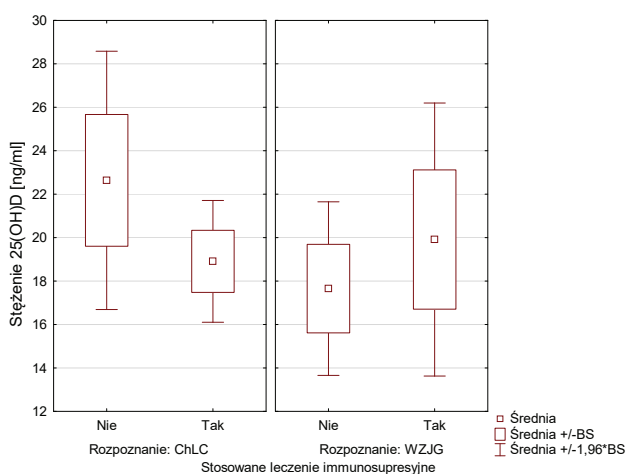
Rycina 39. Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ w zależności od przyjmowania glikokortykosteroidów i preparatów witaminy D

4.2.7.2 Stężenie witaminy D a stosowane leki immunosupresyjne

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D w grupie dzieci leczonych immunosupresyjnie w porównaniu z grupą chorych, u których nie stosowano tego typu terapii (tabela 28, rycina 40) ($p > 0,05$).

Tabela 28. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących azatioprynę i bez tego typu leczenia

Grupa chorych	Leki immunosupresyjne	Średnie stężenie 25(OH)D (ng/ml)
ChLC	Nie	22,27
ChLC	Tak	18,96
WZJG	Nie	17,53
WZJG	Tak	21,63



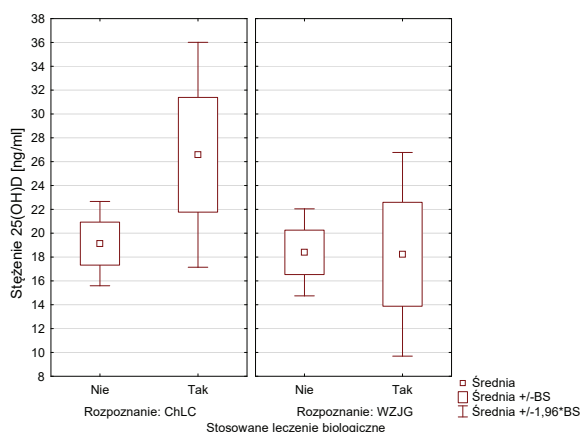
Rycina 40. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących azatioprynę i bez tego typu leczenia

4.2.7.3 Stężenie witaminy D a stosowane leki biologiczne

Stężenie witaminy D w grupie dzieci z ChLC, które do chwili włączenia do badania przyjmowały leki biologiczne było najwyższe (26,57 ng/ml) w stosunku do pozostałych analizowanych grup; różnica ta była istotna w stosunku do chorych z WZJG nie przyjmujących leków biologicznych (18,39 ng/ml, $p=0,04$). W pozostałych grupach badanych (chorzy z ChLC nie przyjmujący leków biologicznych, chorzy z WZJG przyjmujący leki biologiczne) różnica nie była istotna statystycznie (odpowiednio $p=0,06$, $p=0,22$) (tabela 29, rycina 41).

Tabela 29. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ, które do chwili włączenia do badania stosowały leki biologiczne i bez tego typu terapii

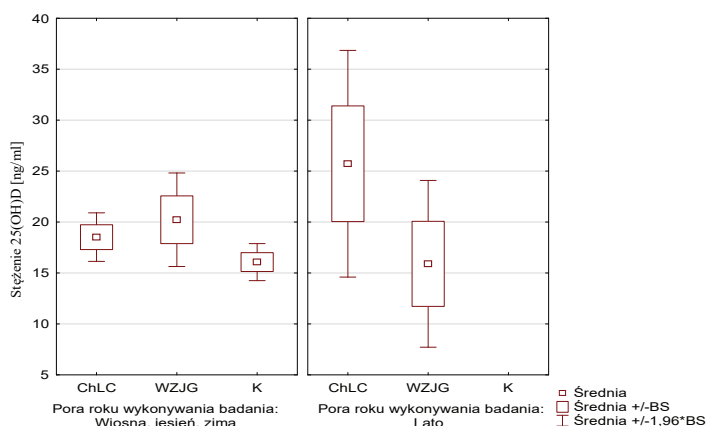
Grupa chorych	Leki biologiczne	Średnie stężenie 25(OH)D (ng/ml)
ChLC	TAK	26,58
ChLC	NIE	19,13
WZJG	TAK	18,23
WZJG	NIE	18,4



Rycina 41. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ, które do chwili włączenia do badania stosowały leki biologiczne i bez tego typu terapii

4.2.8 Stężenie witaminy D a pora roku, w której wykonywano badania

Nie wykazano różnicy statystycznej pomiędzy stężeniem witaminy D we krwi, a porą roku, w której wykonywano badania (rycina 42). Najwyższe średnie stężenie witaminy D wykazano w grupie chorych z ChLC, gdy badanie wykonywano latem (22,01 ng/ml), a najniższe w grupie chorych z WZJG, gdy badanie również wykonywano latem (15,01 ng/ml).



Rycina 42. Stężenie witaminy D a pora roku, w której wykonywano badania

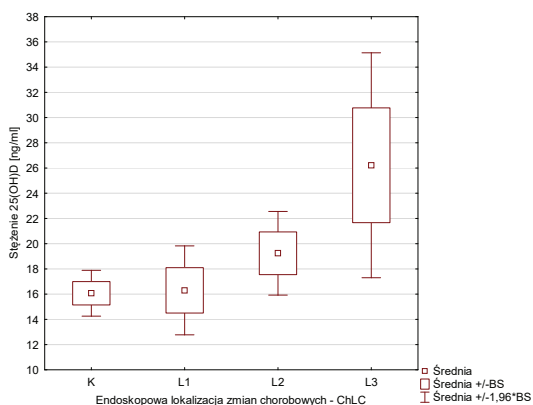
4.2.9 Stężenie witaminy D a czas trwania choroby

Średni czas trwania choroby u pacjentów z ChLC wynosił 29 miesięcy, a z WZJG 16 miesięcy. Nie wykazano korelacji między stężeniem witaminy D a czasem trwania choroby (współczynnik Spearmana=0,038, $p>0,05$).

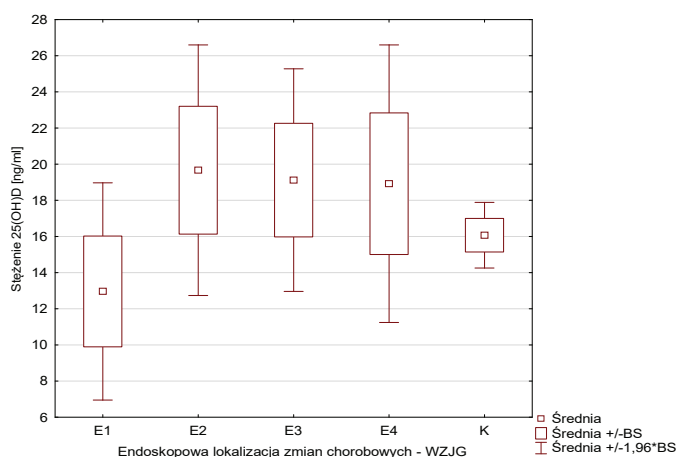
4.2.10 Stężenie witaminy D a lokalizacja zmian chorobowych w jelicie u pacjentów z NZJ

W grupie chorych z ChLC wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenie witaminy D w grupie dzieci z lokalizacją endoskopową zmian chorobowych L3 (26,22 ng/ml), czyli gdy zmiany chorobowe obejmowały zarówno okrężnicę i jelito kręte, w porównaniu do grupy dzieci z lokalizacją endoskopową L2 - proces chorobowy dotyczył okrężnicy (19,24 ng/ml) i grupą porównawczą (16,07 ng/ml) (odpowiednio $p=0,03$, $p<0,001$)

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D u dzieci z WZJG w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby (rycina 43, 44).



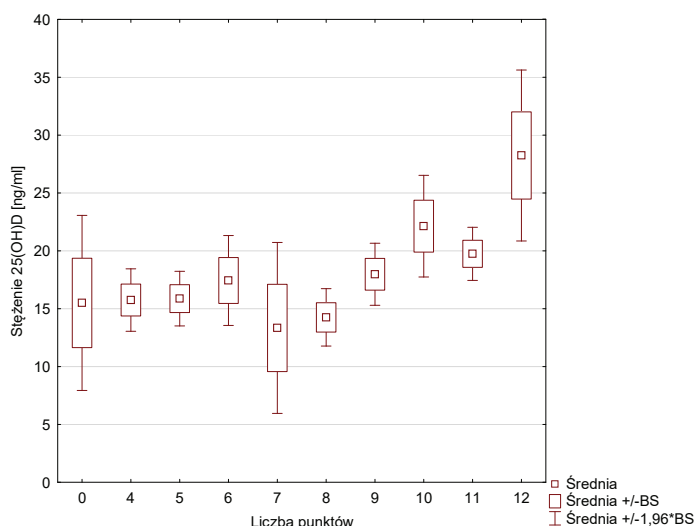
Rycina 43. Stężenie witaminy D w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby u pacjentów z ChLC



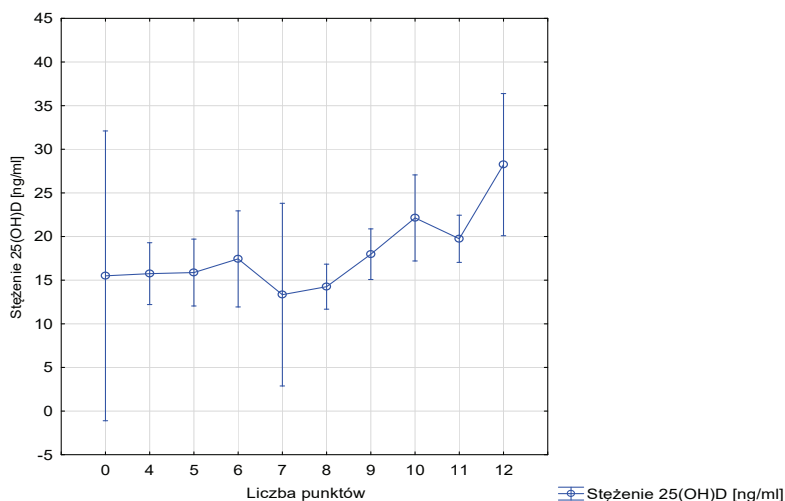
Rycina 44. Stężenie witaminy D w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby u pacjentów z WZJG

4.2.11 Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce w różnych porach roku

Zastosowano skalę punktową oceny częstości ekspozycji na światło słoneczne pacjentów z całej grupy badanej (NZJ, K) - podczas ekspozycji rąk, przedramion i twarzy przez minimum 30 minut dziennie codziennie przyznawano 3 punkty, gdy ekspozycja miała miejsce kilka razy w tygodniu - 2 punkty, gdy kilka razy w miesiącu - 1 punkt, gdy rzadziej - 0 punktów, niezależnie od pory roku. Maksymalnie można było uzyskać 12 punktów (4 pory roku z maksymalną liczbą punktów-3; $4 \times 3 = 12$), minimalnie 0 punktów. Następnie określono stężenie witaminy D w podgrupach pacjentów w zależności od uzyskanej liczby punktów (rycina 45, 46). Wykazano istotnie statystycznie najwyższe stężenie witaminy D (28,24 ng/ml) w grupie osób eksponowanej na słońce codziennie w każdej porze roku (12 punktów) w stosunku do pozostałych grup, które uzyskały mniejszą liczbę punktów niż maksymalna (p odpowiednio 0,01, 0,002, 0,007, 0,01, <0,001, <0,001, <0,001, 0,05, 0,01), najniższe stężenie (15,5 ng/ml) wykazano w grupie eksponowanej na słońce najrzadziej. Ponadto osoby, które uzyskały 7 czy 8 punktów miały statystycznie niższe stężenie witaminy D w stosunku do osób, które uzyskały 10 punktów (p odpowiednio równe 0,04, 0,004).



Rycina 45. Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K)

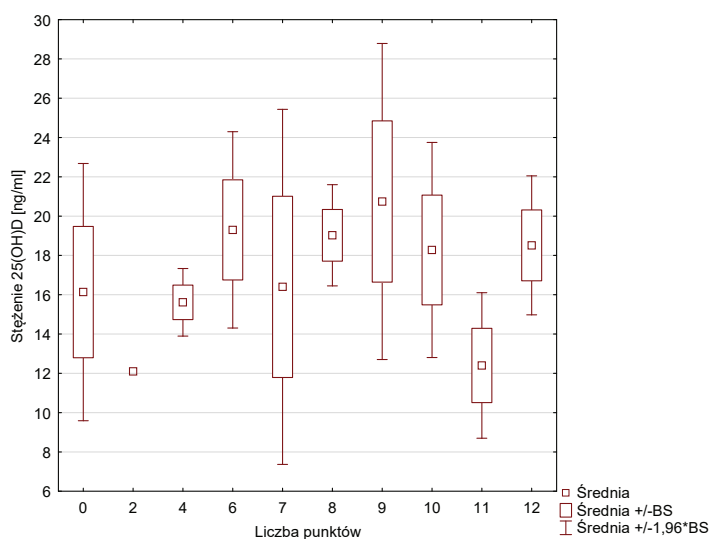


Rycina 46. Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K) - linia trendu

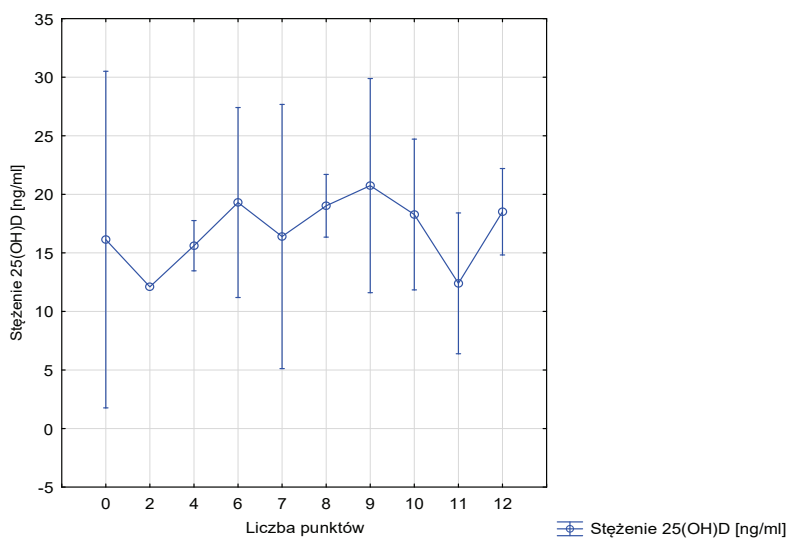
4.2.12 Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna badanych w poszczególnych porach roku

Podobnie zastosowano skalę punktową oceny częstości aktywności fizycznej – przy aktywności przez minimum 30 minut dziennie każdego dnia przyznawano 3 punkty, gdy aktywność fizyczna miała miejsce kilka razy w tygodniu - 2 punkty, gdy kilka razy w miesiącu - 1 punkt, gdy rzadziej - 0 punktów, niezależnie od pory roku. Maksymalnie można uzyskać 12 punktów, minimalnie 0 punktów. Następnie określono stężenie witaminy D w podgrupach pacjentów w zależności od uzyskanej liczby punktów oceniających ich aktywność fizyczną (rycina 47, 48). Nie wykazano

różnicy istotnej statystycznie w stężeniu witaminy D w poszczególnych grupach pacjentów w zależności od uzyskanej przez nich liczby punktów.



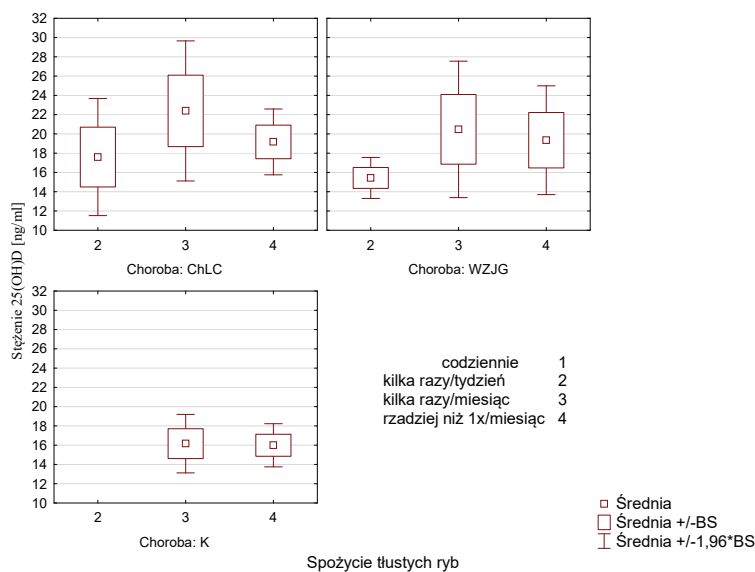
Rycina 47. Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K)



Rycina 48. Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K) - linia trendu

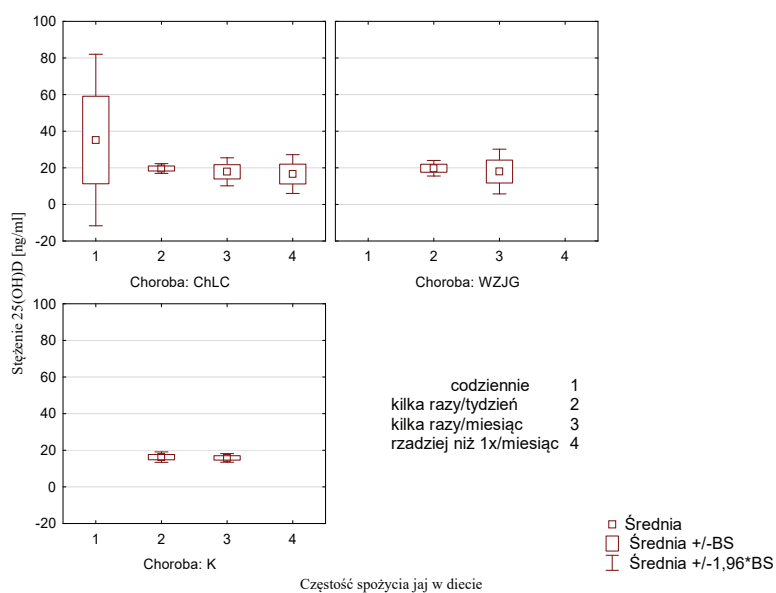
4.2.13 Stężenie witaminy D a dieta w podgrupach badanych (ChLC, WZJG, K)

Najwyższe stężenie 25(OH)D uzyskano w grupie dzieci spożywającej ryby kilka razy w miesiącu we wszystkich podgrupach badanych, w grupie dzieci z ChLC było ono istotnie wyższe niż w pozostałych grupach i wynosiło 22,4 ng/ml (rycina 49).



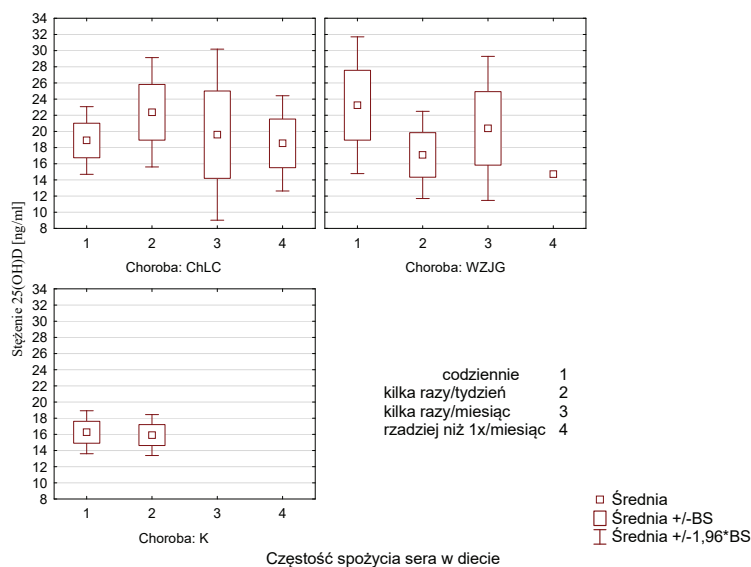
Rycina 49. Stężenie witaminy D a częstość spożycia ryb w diecie

Analizując spożycie jaj w diecie najwyższe stężenie witaminy D osiągnięto w grupie dzieci z ChLC spożywających jaja codziennie (stężenie 25(OH)D - 35,2 ng/ml; $p < 0,05$) (rycina 50).



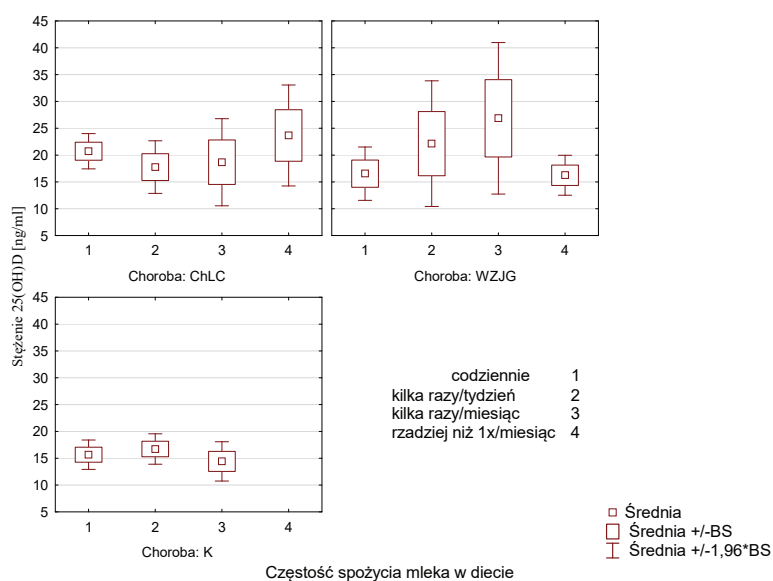
Rycina 50. Stężenie witaminy D a częstość spożycia jaj w diecie

Biorąc pod uwagę częstość spożycia sera żółtego w podgrupach badanych najwyższe stężenie witaminy D wykazano w grupie dzieci z WZJG deklarujących codzienne spożycie sera żółtego (rycina 51).

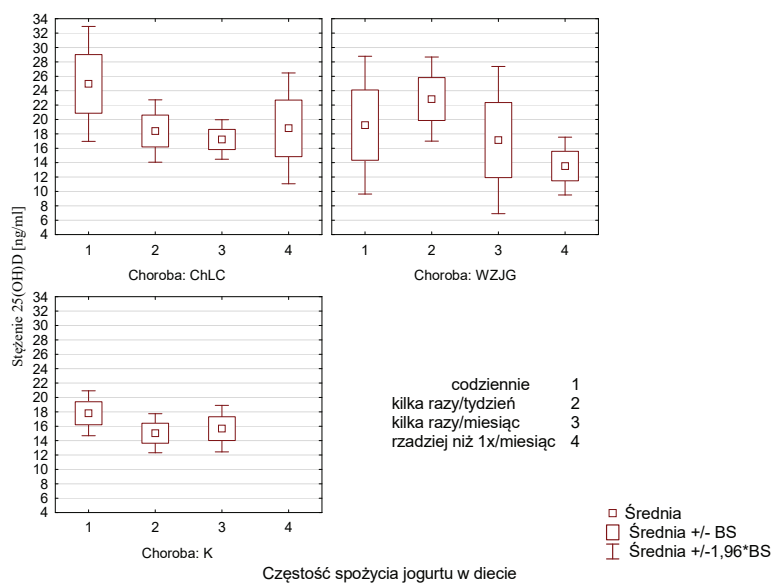


Rycina 51. Stężenie witaminy D a częstość spożycia sera żółtego w diecie

Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D w analizowanych podgrupach badanych względem częstości spożycia mleka i jogurtów (rycyna 52, 53).



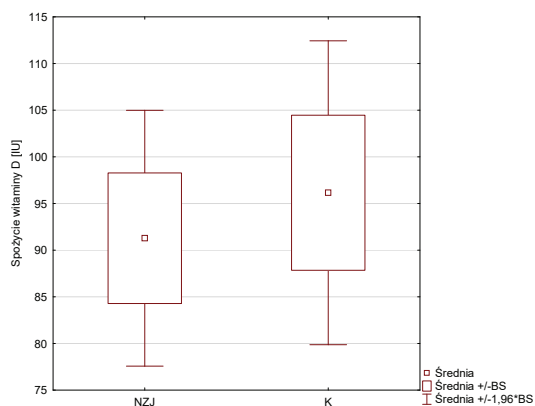
Rycina 52. Stężenie witaminy D a częstość spożycia mleka w diecie



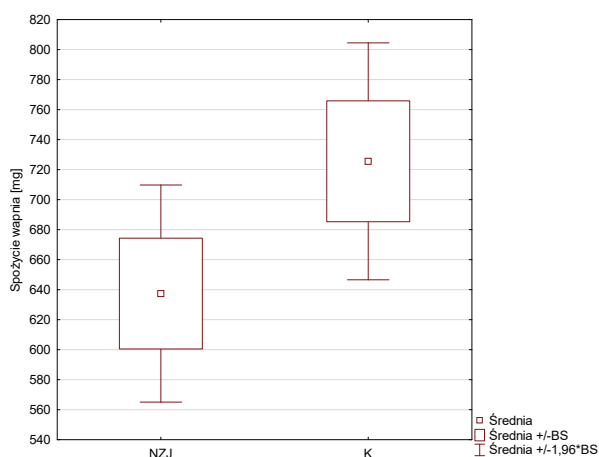
Rycina 53. Stężenie witaminy D a częstość spożycia jogurtu w diecie

4.2.14 Analiza dzienniczków dietetycznych

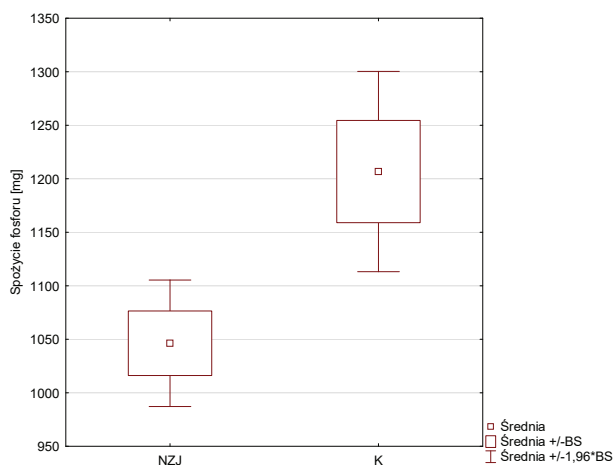
Analiza dzienniczków żywieniowych przy udziale programu DIETA 5 wykazała u dzieci z NZJ realizację średniego zapotrzebowania dla grupy (EAR; *estimated average requirement*) w wysokości 72,5% (min 48,02%, max 112,69%, mediana 70,795, SD 14,24). Średnie spożycie białka u dzieci w grupie NZJ wynosiło 1,6 g/kg masy ciała, stosunek białka:tłuszczy:węglowodanów wynosił średnio 16,6:30,4:52,9. Średnie spożycie witaminy D w diecie wynosiło 91,27 IU (min 14,24IU, max 303,376 IU, mediana 81,26, SD 55,07 IU), wapnia 637,4 mg, fosforu 1046 mg i wartości te były niższe w stosunku do grupy porównawczej (odpowiednio 96,15 IU, 725,6 mg, 1206,7 mg), jednak różnice nie były istotne statystycznie (odpowiednio $p=0,9$, $p=0,38$, $p=0,6$) (rycina 54, 55, 56). Stosunek Ca:P w spożywanej diecie wynosił w grupie dzieci chorych z NZJ średnio 0,594, w grupie porównawczej 0,6.



Rycina 54. Średnie dzienne spożycie witaminy D (IU) w diecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej



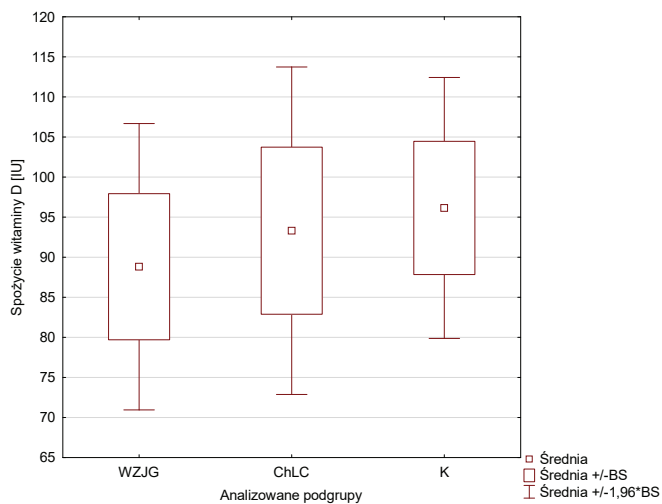
Rycina 55. Średnie dzienne spożycie wapnia (mg) w dziecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej



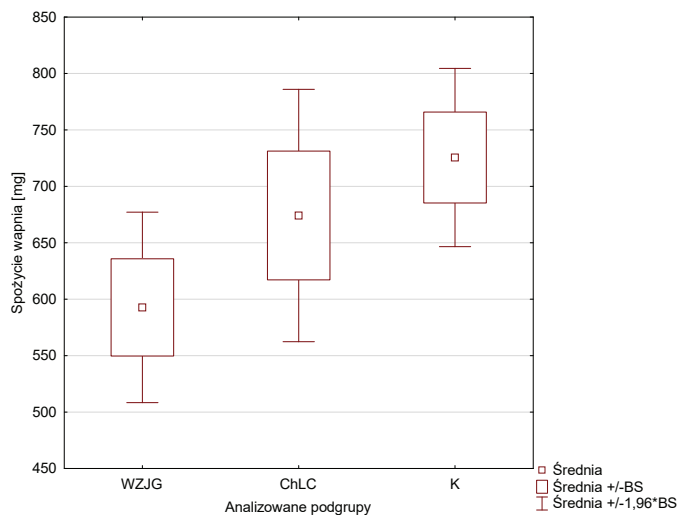
Rycina 56. Średnie spożycie dzienne fosforu (mg) w dziecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej

Odpowiednio w podgrupach chorych średnie dzienne EAR u dzieci z ChLC wynosiło 71,67%, u WZJG 73,4%. Średnie spożycie białka (w gramach) w przeliczeniu na kilogram masy ciała u chorych z ChLC wynosiło 1,56, u chorych z WZJG 1,67.

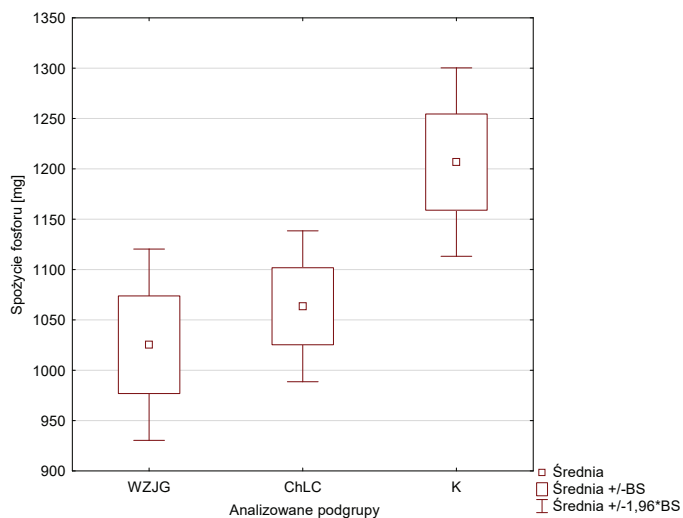
Średnie dzienne spożycie witaminy D u dzieci z ChLC wynosiło 93,3 IU, u chorych z WZJG 88,8 IU, wapnia u chorych z ChLC wynosiło 674 mg, u chorych z WZJG 592,75 mg, fosforu u chorych z ChLC 1063 mg, u chorych z WZJG 1025,34 mg. Różnice nie były istotne statystycznie ($p > 0,05$) (rycina 57, 58, 59). Średni stosunek Ca:P u chorych z ChLC wynosił 0,61, u chorych z WZJG 0,57.



Rycina 57. Średnie dzienne spożycie witaminy D (IU) w dziecie w analizowanych podgrupach



Rycina 58. Średnie dzienne spożycie wapnia (mg) w dziecie w analizowanych podgrupach



Rycina 59. Średnie dzienne spożycie fosforu (mg) w dziecie w analizowanych podgrupach

4.3 Analiza polimorfizmów genu receptora witaminy D

4.3.1. Częstość występowania poszczególnych genotypów analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w badanych grupach dzieci

Częstość występowania poszczególnych alleli badanych polimorfizmów genu *VDR* przedstawiono w tabeli 30.

Tabela 30. Frekwencja alleli (%) poszczególnych polimorfizmów genu *VDR* w grupie NZJ i K

Polimorfizm	Allel	NZJ	K
Cdx2	G	85	90
	A	15	10
FokI	T	47	52
	C	53	48
BsmI	G	69	78
	A	31	22
ApaI	G	54	64
	T	46	36
TaqI	T	69	79
	C	31	21

Częstość występowania polimorfizmów genu *VDR* była zgodna z prawem równowagi Hardy'ego-Weinberga zarówno w grupie badawczej jak i porównawczej, za wyjątkiem polimorfizmu BsmI i TaqI w grupie porównawczej (tabela 31).

Tabela 31. Wartość X^2 poszczególnych polimorfizmów w grupie dzieci z NZJ i grupie porównawczej. Wartości $<3,84$ są zgodne z prawem równowagi Hardy'ego-Weinberga

Polimorfizm	NZJ	K
Cdx2	1.79	0.92
FokI	0.64	0.02
BsmI	0.49	4.98
ApaI	0.32	1.37
TaqI	1.21	6.26

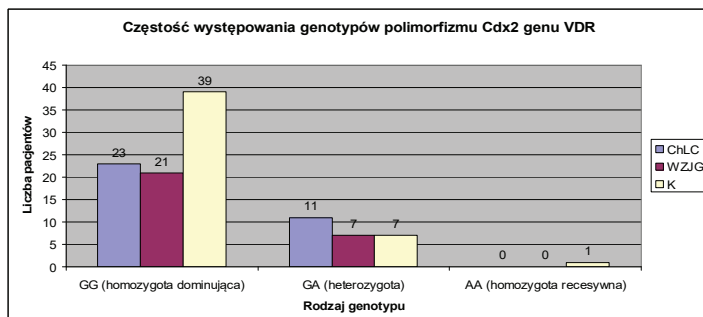
Częstość występowania polimorfizmów genu *VDR* ustalono dla 109 osób i przedstawiono w tabeli 32.

Tabela 32. Częstość występowania poszczególnych rodzajów polimorfizmów genu *VDR* w całej badanej populacji (NZJ + K)

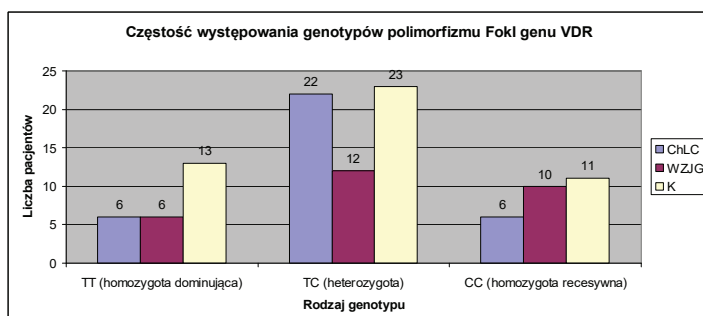
Polimorfizm	Genotyp (homozygota dominująca)	Liczba badanych (%)	Genotyp (heterozygota)	Liczba badanych (%)	Genotyp (homozygota recesywna)	Liczba badanych (%)
Cdx2	GG	83 (76,1)	GA	25 (22,9)	AA	1 (0,9)
FokI	TT	25 (22,9)	TC	57 (52,3)	CC	27 (24,8)
BsmI	GG	62 (56,9)	GA	35 (32,1)	AA	12 (11,1)
ApaI	GG	38 (34,9)	GT	51 (46,8)	TT	20 (18,3)
TaqI	TT	63 (57,8)	TC	33 (30,3)	CC	13 (11,9)

Nie obserwowano także statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi grupami (NZJ, K) w zakresie wszystkich badanych polimorfizmów Cdx2 ($p=0,13$), FokI ($p=0,59$), BsmI ($p=0,2$), ApaI ($p=0,25$), TaqI ($p=0,15$).

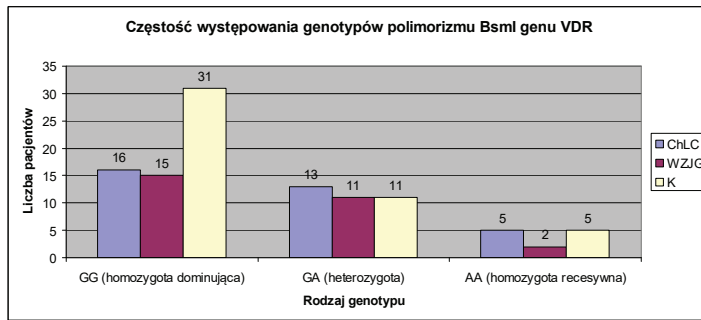
Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi podgrupami (ChLC, WZJG, K) w zakresie polimorfizmu Cdx2 ($p=0,33$, rycina 60), FokI ($p=0,33$, rycina 61), BsmI ($p=0,4$, rycina 62), ApaI ($p=0,45$, rycina 63), TaqI ($p=0,38$, rycina 64).



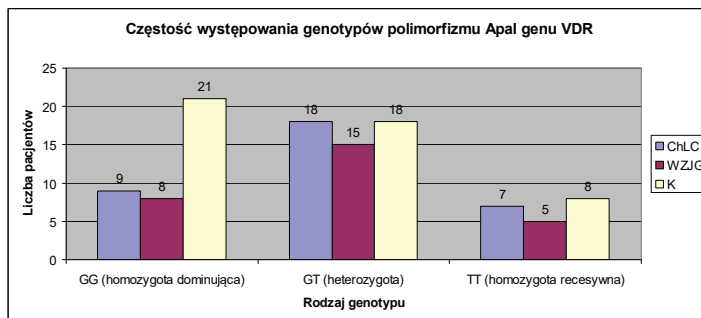
Rycina 60. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu Cdx2 genu *VDR* w podgrupach badanych



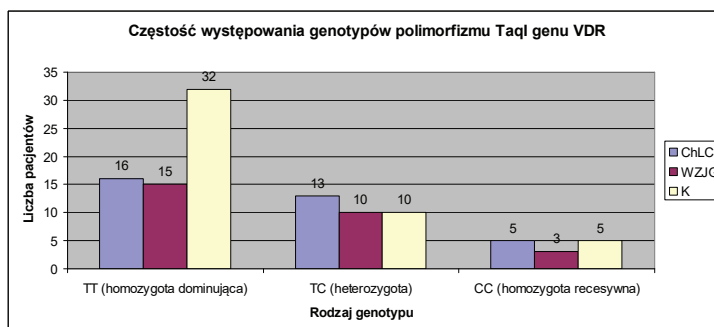
Rycina 61. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu FokI genu *VDR* w podgrupach badanych



Rycina 62. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu BsmI genu VDR w podgrupach badanych



Rycina 63. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu ApaI genu VDR w podgrupach badanych



Rycina 64. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu TaqI genu VDR w podgrupach badanych

Wykazano istotnie statystyczną zwiększoną szansę zachorowania na NZJ dla genotypu GA polimorfizmu Cdx2 (2,3x krotnie), genotypu GA polimorfizmu BsmI (2,07x krotnie) (rycina 64). W pozostałych przypadkach nie wykazano zwiększonej szansy zachorowania na NZJ lub różnice nie były istotne statystycznie (tabela 33, 34, 35, 36, 37, rycina 65).

Tabela 33. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem Cdx2 genu VDR

	RR (relative risk in incidence study)	Approximate (Koopman) 95% CI	Approximate power (for 5% significance)	Observed OR	Approximate (Woolf, logit) 95% CI	p (Fisher)
GG	0,77	0,57 - 1,1	22,14%	0,5	0,19 - 1,29	0,11
GA	1,37	0,96 - 1,85	31,4%	2,3	0,89 - 6,18	0,04
AA	0	0 - 1,41	< 0.01%	0	0 - 29,56	NS

Tabela 34. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem FokI genu VDR

	RR (relative risk in incidence study)	Approximate (Koopman) 95% CI	Approximate power (for 5% significance)	Observed OR	Approximate (Woolf, logit) 95% CI	p (Fisher)
TC	1,11	0,8 - 1,56	6,13%	1,27	0,59 - 2,71	0,3
TT	0,81	0,49 - 1,19	12,24%	0,63	0,26 - 1,54	0,2
CC	1,06	0,69 - 1,47	5,83%	1,14	0,47 - 2,75	0,4

Tabela 35. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem BsmI genu VDR

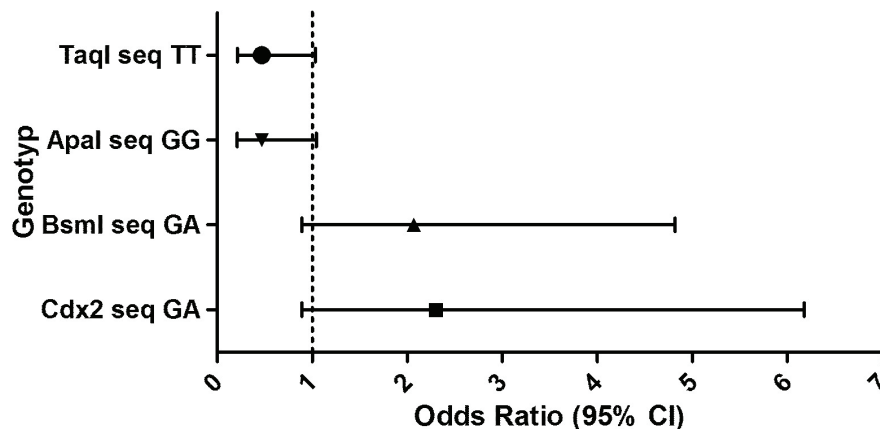
	RR (relative risk in incidence study)	Approximate (Koopman) 95% CI	Approximate power (for 5% significance)	Observed OR	Approximate (Woolf, logit) 95% CI	p (Fisher)
AA	1,03	0,55 - 1,52	5,04%	1,07	0,32 - 3,61	0,5
GA	1,33	0,95 - 1,82	31,16%	2,07	0,89 - 4,82	0,048
GG	0,76	0,55 - 1,05	30,88%	0,52	0,24 - 1,13	0,05

Tabela 36. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem ApaI genu VDR

	RR (relative risk in incidence study)	Approximate (Koopman) 95% CI	Approximate power (for 5% significance)	Observed OR	Approximate (Woolf, logit) 95% CI	p (Fisher)
TT	1,07	0,67 - 1,51	5,92%	1,17	0,44 - 3,14	0,4
GG	0,71	0,46 - 1,02	38,52%	0,47	0,21 - 1,04	0,04
GT	1,3	0,93 - 1,81	26,91%	1,82	0,85 - 3,96	0,13

Tabela 37. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem TaqI genu VDR

	RR (relative risk in incidence study)	Approximate (Koopman) 95% CI	Approximate power (for 5% significance)	Observed OR	Approximate (Woolf, logit) 95% CI	p (Fisher)
CC	1,09	0,62 - 1,57	6,14%	1,24	0,38 - 4,08	0,4
TC	1,36	0,97 - 1,84	34,12%	2,18	0,92 - 5,2	0,05
TT	0,73	0,53 - 1,01	39,38%	0,47	0,21 - 1,03	0,04



Rycina 65. Iloraz szans występowania NZJ w zależności od badanego polimorfizmu genu *VDR*

4.3.2 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a aktywność choroby u pacjentów z NZJ

Dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach badanych (ChLC, WZJG) wykazano związek między stopniem aktywności choroby pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu FokI ($p=0,027$).

Analizując występowanie pozostałych polimorfizmów genu receptora witaminy D u pacjentów z NZJ oraz w podgrupach z ChLC i WZJG, nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy między ich obecnością, a stopniem aktywności choroby:

- Grupa dzieci z NZJ: Cdx2 ($p=0,08$), FokI ($p=0,52$), BsmI ($p=0,16$), ApaI ($p=0,5$), TaqI ($p=0,1$)
- Grupa pacjentów z ChLC Cdx2 ($p=0,076$), FokI ($p=0,74$), BsmI ($p=0,15$), ApaI ($p=0,3$), TaqI ($p=0,15$)
- Grupa pacjentów z WZJG: Cdx2 ($p=0,25$), BsmI ($p=0,33$), ApaI ($p=0,25$), TaqI ($p=0,12$)

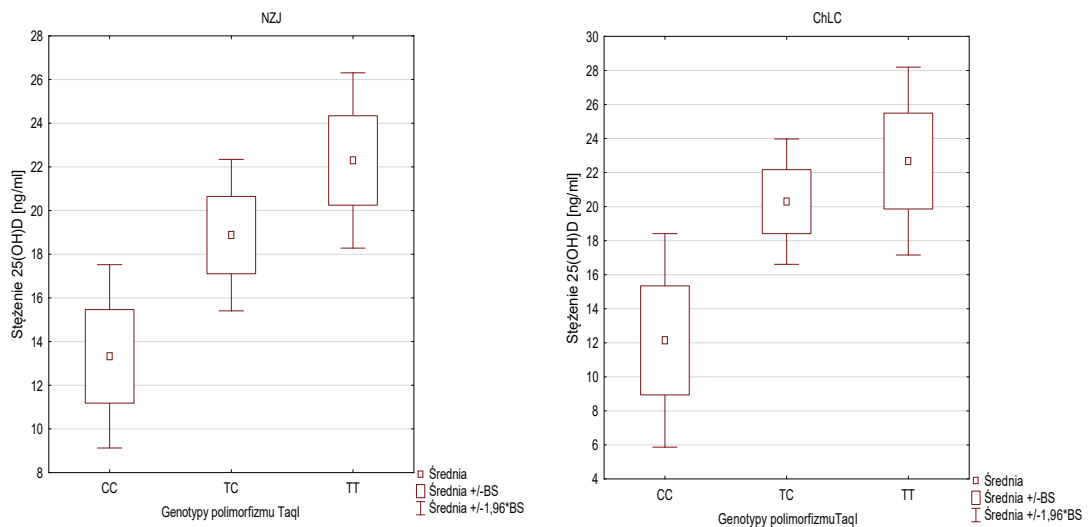
4.3.3 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a stężenie witaminy D

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność stężenia witaminy D w zakresie polimorfizmu:

- TaqI

- różnica dotyczyła stężenia witaminy D u pacjentów z NZJ ($p=0,025$); u pacjentów z homozygotą dominującą (CC) wobec zmutowanego allelu stężenie witaminy D było istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (rycina 66)

- różnica dotyczyła stężenia witaminy D u pacjentów z ChLC ($p=0,03$); u pacjentów z homozygotą dominującą (CC) wobec zmutowanego allelu stężenie witaminy D było istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (rycina 66)

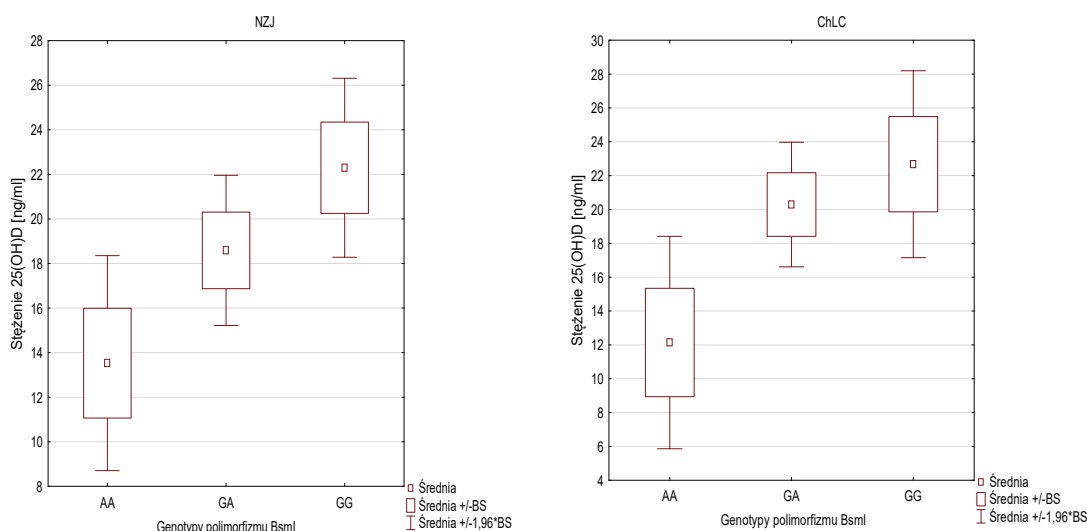


Rycina 66. Stężenie 25(OH)D a poszczególne genotypy polimorfizmu TaqI genu *VDR* u chorych z NZJ i ChLC

- BsmI

- różnica dotyczyła stężenia witaminy D u pacjentów z NZJ ($p=0,04$); u pacjentów z homozygotą dominującą (AA) wobec zmutowanego allelu stężenie witaminy D było istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (GG) (rycina 67)

- różnica dotyczyła stężenia witaminy D u pacjentów z ChLC ($p=0,04$); u pacjentów z homozygotą dominującą (AA) wobec zmutowanego allelu stężenie witaminy D było istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (GG) (rycina 67)



Rycina 67. Stężenie 25(OH)D a poszczególne genotypy polimorfizmu BsmI genu *VDR* u chorych z NZJ i ChLC

4.3.4 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

4.3.4.1 Polimorfizm *Cdx2* genu *VDR* a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność w zakresie polimorfizmu *Cdx2*:

- różnica dotyczyła stężenia fosforu (P) u chorych z ChLC ($p=0,03$); u pacjentów heterozygotycznych (GA) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (GG).

4.3.4.2 Polimorfizm *FokI* genu *VDR* a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność w zakresie polimorfizmu *FokI*:

1. U chorych z NZJ (ChLC+WZJG):

- różnica dotyczyła stężenia wapnia ($p=0,03$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT),

- różnica dotyczyła stężenia fosforu ($p=0,01$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT),

- różnica dotyczyła liczby białych krwinek (WBC); u pacjentów heterozygotycznych (TC) ($p=0,007$) oraz u pacjentów homozygotycznych (CC) ($p=0,008$) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT),

- różnica dotyczyła liczby neutrofilii; u pacjentów heterozygotycznych (TC) ($p=0,02$) oraz u pacjentów homozygotycznych (CC) ($p=0,009$) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT).

2. U chorych z ChLC:

- różnica dotyczyła stężenia wapnia ($p=0,009$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła stężenia fosforu ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła liczby białych krwinek; u pacjentów heterozygotycznych (TC) ($p=0,01$) oraz u pacjentów homozygotycznych (CC) ($p=0,02$) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

3. U chorych z WZJG:

- różnica dotyczyła stężenia parathormonu ($p=0,03$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła liczby białych krwinek ($p=0,02$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła liczby neutrofilii ($p=0,048$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

4.3.4.3 Polimorfizm BsmI genu *VDR* a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność w zakresie polimorfizmu BsmI:

1. U chorych z NZJ:

- różnica dotyczyła wartości wskaźnika wapniowo-kreatyninowego ($p=0,047$); u pacjentów heterozygotycznych (GA) wobec zmutowanego allelu był on istotnie wyższy w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła wartości OB ($p=0,03$); u pacjentów heterozygotycznych (GA) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

2. U chorych z ChLC

- różnica dotyczyła wartości wskaźnika wapniowo-kreatyninowego ($p=0,015$); u pacjentów homozygotycznych (AA) wobec zmutowanego allelu był on istotnie wyższy w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła wartości OB; u pacjentów heterozygotycznych (GA) ($p=0,02$) oraz homozygotycznych (AA) ($p=0,002$) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła stężenia albuminy; u pacjentów heterozygotycznych (GA) wobec zmutowanego allelu ($p=0,02$) oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (GG) było ono istotnie wyższe w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną (AA),

- różnica dotyczyła liczby płytek krwi ($p=0,007$); u pacjentów heterozygotycznych (GA) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

3. U chorych z WZJG

- różnica dotyczyła stężenia parathormonu ($p=0,04$); u pacjentów homozygotycznych (AA) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła wartości wskaźnika wapniowo-kreatyninowego; u pacjentów z homozygotą dominującą ($p=0,03$) oraz heterozygotycznych (GA) ($p=0,004$) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (AA).

4.3.4.4 Polimorfizm ApaI genu VDR a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność w zakresie polimorfizmu ApaI:

1. U chorych z NZJ

- różnica dotyczyła liczby limfocytów u pacjentów z NZJ ($p=0,025$); u pacjentów heterozygotycznych (GT) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

2. U chorych z ChLC

- różnica dotyczyła stężenia fosforu ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (GT) wobec zmutowanego allelu było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła wskaźnika wapniowo-kreatyninowego ($p=0,02$); u pacjentów heterozygotycznych (GT) wobec zmutowanego allelu był on istotnie niższy w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła stężenia CRP; u pacjentów heterozygotycznych (GT) ($p=0,008$) wobec zmutowanego allelu oraz u pacjentów pacjentów, u których

stwierdzono homozygotę dominującą ($p=0,009$) było ono istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT) ($p=0,017$),

- różnica dotyczyła wartości OB ($p=0,03$); u pacjentów heterozygotycznych (GT) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie niższa w stosunku do pacjentów, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT). U pacjentów osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą różnica była na granicy istotności statystycznej ($p=0,053$),

- różnica dotyczyła liczby limfocytów ($p=0,04$); u pacjentów, osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

3. U chorych z WZJG

- różnica dotyczyła stężenia parathormonu; u pacjentów heterozygotycznych (GT) ($p<0,001$) wobec zmutowanego allelu oraz u pacjentów, u których stwierdzono homozygotę dominującą ($p=0,004$) było ono istotnie niższe w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną (TT),

- różnica dotyczyła aktywności fosfatazy alkalicznej ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (GT) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

4.3.4.5 Polimorfizm TaqI genu VDR a wyniki wybranych badań laboratoryjnych

Dla analizowanej populacji (NZJ, K) oraz w wybranych podgrupach chorych z NZJ (ChLC, WZJG) wykazano istotną statystycznie zależność w zakresie **polimorfizmu TaqI:**

1. U chorych z NZJ:

- różnica dotyczyła wartości OB ($p=0,025$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

- różnica dotyczyła wartości hematokrytu ($p=0,04$); u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) był on istotnie niższy w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)

- różnica dotyczyła liczby limfocytów ($p=0,047$); u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) była ona istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)

- różnica dotyczyła liczby płytek krwi ($p=0,044$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

2. U chorych z ChLC

- różnica dotyczyła stężenia CRP ($p=0,01$); u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) było ono istotnie wyższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT),

- różnica dotyczyła wartości OB; u pacjentów heterozygotycznych (TC) ($p=0,02$) wobec zmutowanego allelu oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą ($p=0,002$) była istotnie niższa w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną,

- różnica dotyczyła stężenia albuminy; u pacjentów heterozygotycznych (TC) ($p=0,02$) wobec zmutowanego allelu oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą ($p=0,02$) było ono istotnie wyższe w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną,

- różnica dotyczyła liczby płytek krwi ($p=0,007$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

3. U chorych z WZJG

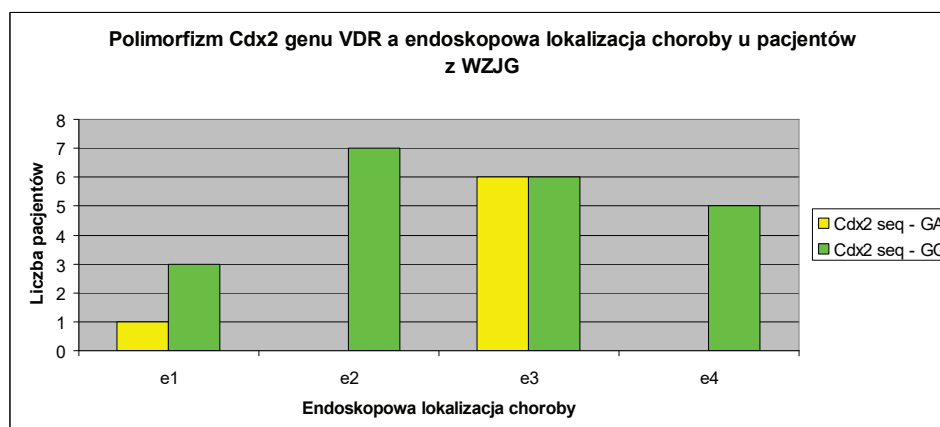
- różnica dotyczyła wartości wskaźnika wapniowo-kreatyninowego ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego był on istotnie niższy w stosunku do do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą,

- różnica dotyczyła wartości OB ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego allelu była ona istotnie wyższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą.

Dla pozostałych analizowanych polimorfizmów nie wykazano zależności w zakresie wyników wybranych parametrów laboratoryjnych w analizowanych grupach i podgrupach chorych (NZJ, ChLC, WZJG).

4.3.5 Polimorfizmy genu receptora witaminy D a lokalizacja choroby

Dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach badanych (ChLC, WZJG) wykazano związek między lokalizacją choroby w paryskiej klasyfikacji endoskopowej u pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D ($p=0,046$) (rycina 68).



Rycina 68. Polimorfizm Cdx2 genu *VDR* a endoskopowa lokalizacja choroby u pacjentów z WZJG

Analizując występowania pozostałych polimorfizmów genu receptora witaminy D u pacjentów z NZJ oraz w podgrupach z ChLC i WZJG, nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy między ich obecnością, a endoskopową lokalizacją choroby:

- Grupa dzieci z NZJ: Cdx2 ($p=0,25$), FokI ($p=0,87$), BsmI ($p=0,94$), ApaI ($p=0,55$), TaqI ($p=0,78$)
- Grupa pacjentów z ChLC: Cdx2 ($p=0,75$), FokI ($p=0,86$), BsmI ($p=0,85$), ApaI ($p=0,25$), TaqI ($p=0,85$)
- Grupa pacjentów z WZJG: FokI ($p=0,9$), BsmI ($p=0,74$), ApaI ($p=0,55$), TaqI ($p=0,29$)

5. Streszczenie wybranych wyników badań

5.1 Charakterystyka badanych grup

- Analizie poddano 109 pacjentów, w tym 46 dziewcząt (42,2%) oraz 63 chłopców (57,8%). Wiek badanych mieścił się w przedziale od 3,16 lat do 17,9 lat (średnio 14,21 lat, mediana 14,58 lat, SD 2,82 lat). W grupie badanej z NZJ były 64 osoby, w tym 34 pacjentów z ChLC i 28 z WZJG, grupę porównawczą stanowiło 47 dzieci.
- Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy dotyczącej wieku dzieci między poszczególnymi grupami (NZJ, K) oraz podgrupami badanych (ChLC, WZJG, K).
- Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy względem płci między analizowanymi grupami (NZJ, K) i podgrupami badanych (ChLC, WZJG, K).

5.2 Stan odżywienia badanych

- Dzieci z NZJ były istotnie niższe i miały niższą masę ciała w stosunku do dzieci z grupy porównawczej. Chorzy z ChLC mieli najniższy wzrost i masę ciała (różnica istotna statystycznie), chorzy z WZJG nie różnili się istotnie statystycznie pod względem masy ciała i wzrostu w stosunku do grupy porównawczej.
- Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między wartością BMI w grupie badanych z NZJ w stosunku do grupy porównawczej
- W grupie badawczej wartości percentyla BMI były istotnie niższe niż w grupie porównawczej, najniższe w grupie dzieci z ChLC.
- W grupie badawczej wartości współczynnika Cole'a były istotnie niższe niż w grupie porównawczej, najniższe w grupie dzieci z ChLC.
- Nie wykazano korelacji między stężeniem albuminy a stanem odżywienia wyrażonym poprzez wskaźnik BMI, percentyl BMI czy współczynnik Cole'a w grupie pacjentów z NZJ.

5.3 Charakterystyka grupy dzieci z NZJ

- Średni okres, jaki upłynął od momentu rozpoznania choroby do włączenia do niniejszej analizy u pacjentów z ChLC wynosił 29 miesięcy, a u pacjentów z WZJG 16 miesięcy.

- Wśród analizowanych objawów klinicznych występujących w momencie rozpoznania choroby w analizowanej grupie dzieci z NZJ najczęstszymi były: ból brzucha, biegunka, obecność krwi w stolcu i osłabienie; obie podgrupy chorych (ChLC i WZJG) różniły się między sobą jedynie częstością występowania krwi w stolcu - objaw ten występował zdecydowanie częściej u chorych z WZJG.
- Wśród analizowanych objawów klinicznych występujących w momencie przeprowadzenia badania najczęstszymi były: biegunka, bóle brzucha i obecność krwi w stolcu, obie podgrupy chorych (ChLC i WZJG) różniły się, podobnie jak w momencie rozpoznania, jedynie częstością występowania krwi w stolcu - objaw ten występował również zdecydowanie częściej u chorych z WZJG.
- Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w występowaniu częstości złamań kości w wywiadzie w analizowanych grupach (NZJ, K) i podgrupach badanych (ChLC, WZJG, K).
- U większości dzieci z ChLC w momencie włączenia do badania rozpoznawano łagodną postać choroby (47,06%) lub brak aktywności (29,41%); w grupie dzieci z WZJG u większości chorych w momencie badania stwierdzono jej umiarkowaną postać (46,43%).
- Wśród pacjentów z WZJG przeważała endoskopowa lokalizacja zmian chorobowych - E3 (zmiany położone dystalnie od zgięcia wątrobowego), rzadziej rozpoznano postać E2 (zmiany położone dystalnie od zgięcia śledzionowego), E1 (ograniczona do odbytnicy) czy E4 (*pancolitis*).
- U pacjentów z ChLC dominowała postać, w której proces chorobowy dotyczył okrężnicy (L2), rzadziej zmiany chorobowe obejmowały zarówno okrężnicę i jelito kręte (L3), jedynie u dwóch pacjentów proces zapalny dotyczył dystalnej części jelita krętego (L1). Zajęcia górnego odcinka przewodu pokarmowego nie stwierdzono u żadnego z badanych pacjentów z ChLC (L4).
- Analiza wyników badań dodatkowych w grupach dzieci (NZJ, K), wykazała znamienne wyższe wartości wykładników stanu zapalnego (białko CRP, liczba: białych krwinek, neutrofilii, płytek krwi) w grupie chorych (NZJ) w stosunku do grupy porównawczej. W grupie dzieci z NZJ wykazano także

niższe stężenie hemoglobiny. U pacjentów z WZJG wykazano wyższe stężenie wskaźników stanu zapalnego w stosunku do wyników stwierdzonych u dzieci z ChLC.

- W chwili włączenia do badania większość chorych z NZJ (93,5%) było leczonych preparatami aminosalicylanów.
- Niemal połowa badanych z NZJ (46,8%) w momencie analizy była w trakcie sterydoterapii
- Około 30% (18/62) badanych dzieci z NZJ było w trakcie leczenia immunosupresyjnego (azatiopryna), a 13 otrzymywało leczenie biologiczne (infiximab).
- Ponad połowa pacjentów z NZJ (33 osoby – 53,2%) w momencie włączenia do badania otrzymywała preparaty witaminy D. W grupie porównawczej preparaty witaminy D przyjmowało jedynie 7 osób (14,9%).

5.4 Analiza wyników mogących mieć wpływ na stężenie witaminy D we krwi w badanych grupach dzieci

- Ekspozycja na słońce codzienna lub kilka razy w tygodniu była częstsza w grupie porównawczej w stosunku do grupy dzieci z NZJ, różnica była najmniejsza latem.
- Aktywność fizyczna - codziennie lub kilka razy w tygodniu - była podejmowana częściej w grupie porównawczej w stosunku do grupy dzieci z NZJ – jedynie latem aktywność fizyczna u obu grupach była podobna.
- Produkty nabiałowe: mleko, jogurt i ser żółty były spożywane częściej przez dzieci z grupy porównawczej w stosunku do grupy dzieci z NZJ, natomiast jaja częściej spożywały dzieci z grupy badawczej. Tłuste ryby były spożywane sporadycznie we wszystkich analizowanych podgrupach dzieci – zarówno z NZJ jak i z grupy porównawczej.
- Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie w spożyciu witaminy D, wapnia i fosforu w diecie u dzieci z NZJ i w grupie porównawczej

5.5 Stężenie witaminy D w analizowanych grupach dzieci

- Najczęściej zgłaszanym objawem mogącym sugerować niedobór witaminy D w grupie chorych z NZJ było osłabienie (objaw ten był zgłaszany znacznie

częściej niż w grupie porównawczej, różnica była istotna statystycznie - $p=0,02$). Pozostałe objawy (bóle mięśni, bóle kości, bóle stawów, drętwienia) były zgłaszane jedynie sporadycznie, choć bóle stawów deklarowano istotnie częściej w grupie dzieci z ChLC i WZJG w stosunku do grupy porównawczej ($p<0,001$).

- Większość osób z grupy badawczej miało wykonywane oznaczenie stężenia 25(OH)D w okresie zimowym (70,59% ChLC, 78,57% WZJG), podobnie w grupie porównawczej (100% dzieci).
- Średnie stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ wynosiło 19,87 ng/ml (mediana 18,1 ng/ml, min 1 ng/ml, max 59,1 ng/ml, SD 10,15 ng/ml) i było wyższe niż w grupie porównawczej- 16,07 ng/ml (mediana 15,5 ng/ml, min 5 ng/ml, max 35,6 ng/ml, SD 6,35 ng/ml) - $p=0,03$.
- Stężenie witaminy D w grupie chorych z ChLC (średnio 20,21 ng/ml) było nieznacznie wyższe niż u chorych z WZJG (średnio 19,45 ng/ml) oraz w grupie porównawczej (średnio 16,07 ng/ml); różnice nie były istotne statystycznie.
- U zdecydowanej większości badanych, zarówno w grupie dzieci z NZJ (59,7%) jak i w porównawczej (80,85%) stwierdzono niedobór witaminy D; stężenie suboptymalne stwierdzono u 27,4% chorych z NZJ i u 15% dzieci z grupy porównawczej, natomiast stężenie prawidłowe jedynie u 9,7% dzieci z NZJ i 4,25% dzieci z grupy porównawczej.
- Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy wartości stężenia witaminy D w zależności od wieku i płci w całej badanej grupie dzieci (NZJ i K).
- Analizując pozostałe parametry gospodarki wapniowo - fosforanowej wykazano, iż stężenie wapnia całkowitego w surowicy krwi było istotnie niższe w grupie badawczej (podobnie w analizowanych podgrupach - ChLC, WZJG) w stosunku do grupy porównawczej, pozostałe parametry nie różniły się istotnie między analizowanymi grupami (PTH, P, ALP, wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu).

5.6 Stężenie witaminy D a przebieg choroby u dzieci z NZJ

- Nie wykazano istotnie statystycznego związku między stężeniem 25(OH)D a stopniem aktywności choroby u pacjentów z NZJ

- Nie wykazano korelacji między stężeniem 25(OH)D a stanem odżywienia wyrażonym wskaźnikiem BMI, percentylem BMI i współczynnikiem Cole'a u dzieci z NZJ oraz w podgrupach chorych z ChLC i WZJG
- Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem witaminy 25(OH)D w zależności od obecności złamań kości w wywiadzie u pacjentów z NZJ.
- Nie wykazano różnicy statystycznej pomiędzy stężeniem witaminy D we krwi, a porą roku, w której wykonywano badania.
- Nie wykazano korelacji między stężeniem witaminy D a czasem trwania choroby.
- Wykazano istotnie wyższe średnie stężenie witaminy 25(OH)D w całej grupie dzieci (NZJ, K) stosujących jej suplementację (21,89 ng/ml) w stosunku do grupy dzieci, które nie stosowały suplementacji (16,03 ng/ml).
- Wykazano istotnie wyższe stężenie witaminy 25(OH)D w grupie dzieci z ChLC stosujących suplementację (26 ng/ml) w stosunku do dzieci nie przyjmujących witaminy D (odpowiednio stężenie 25(OH)D w grupie dzieci bez suplementacji: ChLC- 15,65 ng/ml, WZJG - 15,6 ng/ml, K - 16,33 ng/ml) oraz w stosunku do osób z grupy porównawczej stosujących suplementację witaminą D (14,81 ng/ml).
- Analizując stężenie witaminy D w podgrupach pacjentów najwyższe stężenie witaminy D uzyskano w grupie pacjentów z ChLC suplementowanej witaminą D w dawce 600-1000 IU, różnice pomiędzy poszczególnymi podgrupami (ChLC, WZJG, K) nie były istotne statystycznie.
- Wykazano istotnie niższe stężenie witaminy D u dzieci z NZJ przyjmujących jedynie sterydy w stosunku do dzieci otrzymujących równocześnie GKS i preparaty witaminy D.
- Nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D w grupie dzieci z NZJ leczonych immunosupresyjnie w porównaniu z grupą chorych, u których nie stosowano tej formy terapii.
- Wykazano istotnie wyższe stężenie witaminy D w grupie dzieci z ChLC, które przed włączeniem do badania otrzymywały leki biologiczne (26,57 ng/ml) w stosunku do chorych z WZJG, u których nie stosowano tej formy terapii (18,39 ng/ml, $p=0,04$). W pozostałych grupach badanych (chorzy

z ChLC nie przyjmujący leków biologicznych, chorzy z WZJG przyjmujący leki biologiczne) różnica nie była istotna statystycznie.

- U dzieci z ChLC wykazano istotnie wyższe stężenie witaminy D w grupie dzieci z lokalizacją endoskopową zmian chorobowych L3 (26,22 ng/ml) w porównaniu do grupy dzieci z lokalizacją endoskopową L2 (19,24 ng/ml) i grupą porównawczą (16,07 ng/ml). Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem witaminy D u dzieci z WZJG w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby.
- W całej grupie badanej (NZJ, K) najwyższe stężenie witaminy D (28,24 ng/ml) wykazano w grupie osób eksponowanych na słońce codziennie w każdej porze roku, zaś najniższe stężenie (15,5 ng/ml) stwierdzono w grupie eksponowanej na słońce najrzadziej.
- W całej grupie badanej (NZJ, K) nie wykazano różnicy istotnej statystycznie w stężeniu witaminy D w poszczególnych grupach pacjentów w zależności od ich aktywności fizycznej.

5.7 Polimorfizmy genu receptora witaminy D

- Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi grupami (NZJ, K) w zakresie wszystkich badanych polimorfizmów Cdx2 ($p=0,13$), FokI ($p=0,59$), BsmI ($p=0,2$), ApaI ($p=0,25$), TaqI ($p=0,15$).
- Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi podgrupami (ChLC, WZJG, K) w zakresie wszystkich badanych polimorfizmów - Cdx2 ($p=0,33$), FokI ($p=0,33$), BsmI ($p=0,4$), ApaI ($p=0,45$), TaqI ($p=0,38$).
- Wykazano istotnie statystyczną zwiększoną szansę zachorowania na NZJ dla genotypu GA polimorfizmu Cdx2 (2,3x krotnie), genotypu GA polimorfizmu BsmI (2,07x krotnie). W pozostałych przypadkach nie wykazano zwiększonej szansy zachorowania na NZJ lub wyniki nie były istotne statystycznie
- Dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach badanych z ChLC i WZJG wykazano związek między stopniem aktywności choroby u pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu FokI ($p=0,027$); nie

wykazano związku pomiędzy stopniem aktywności choroby a pozostałymi polimorfizmami genu *VDR*.

- Dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach badanych (ChLC, WZJG) wykazano związek między lokalizacją choroby w paryskiej klasyfikacji endoskopowej u pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D ($p=0,046$); nie wykazano związku pomiędzy lokalizacją choroby a pozostałymi polimorfizmami genu *VDR*.
- Wykazano statystycznie istotną zależność w zakresie wyższego stężenia witaminy D u pacjentów z NZJ oraz ChLC z homozygotą recesywną (genotyp TT) polimorfizmu TaqI w stosunku do homozygoty dominującej oraz z homozygotą recesywną (genotyp GG) polimorfizmu BsmI w stosunku do homozygoty dominującej

5.7.1 Analiza ewentualnego związku polimorfizmów genu *VDR* z wybranymi wynikami badań laboratoryjnych u pacjentów z NZJ

- **W zakresie polimorfizmu FokI wykazano:**
 - u chorych z NZJ i ChLC - istotnie wyższe stężenie wapnia, fosforu u pacjentów heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)
 - u chorych z NZJ i ChLC - istotnie wyższą liczbę białych krwinek i neutrofilii u pacjentów heterozygotycznych (TC) oraz u pacjentów homozygotycznych (CC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)
 - u pacjentów z WZJG - istotnie niższe stężenie PTH u chorych heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
 - u pacjentów z WZJG - istotnie wyższa liczba białych krwinek i neutrofilii u pacjentów heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

- **W zakresie polimorfizmu BsmI wykazano:**

- u pacjentów z NZJ - istotnie wyższą wartość wskaźnika wapniowo-kreatyninowego i wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (GA) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u pacjentów z ChLC - istotnie wyższą wartość wskaźnika wapniowo-kreatyninowego u pacjentów homozygotycznych (AA) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u pacjentów z ChLC - istotnie wyższą wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (GA) oraz homozygotycznych (AA) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u pacjentów z ChLC - istotnie wyższe stężenie albuminy u pacjentów heterozygotycznych (GA) oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (GG) w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną (AA)
- u chorych z ChLC - istotnie wyższą liczbę płytek krwi u pacjentów heterozygotycznych (GA) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u chorych z WZJG - istotnie wyższe stężenie parathormonu u pacjentów homozygotycznych (AA) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u chorych z WZJG - istotnie niższą wartość wskaźnika wapniowo-kreatyninowego u pacjentów z homozygotą dominującą oraz heterozygotycznych w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (AA)

- **W zakresie polimorfizmu ApaI wykazano:**

- u chorych z NZJ - istotnie niższą liczbę limfocytów u pacjentów heterozygotycznych (GT) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u chorych z ChLC - istotnie wyższe stężenie fosforu u pacjentów heterozygotycznych (GT) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u chorych z ChLC - istotnie niższą wartość wskaźnika wapniowo-kreatyninowego u pacjentów heterozygotycznych (GT) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

- u chorych z ChLC - istotnie niższe stężenia CRP u pacjentów heterozygotycznych (GT) oraz u pacjentów, u których stwierdzono homozygotę dominującą w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT)
 - u chorych z ChLC - istotnie niższą wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (GT) w stosunku do pacjentów, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT). U pacjentów osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą różnica była na granicy istotności statystycznej ($p=0,053$).
 - u chorych z ChLC - istotnie niższą liczbę limfocytów u pacjentów, u których stwierdzono homozygotę recesywną (TT) było istotnie niższe w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
 - u chorych z WZJG - istotnie niższe stężenie parathormonu u pacjentów heterozygotycznych (GT) oraz u pacjentów, u których stwierdzono homozygotę dominującą w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną (TT)
 - u chorych z WZJG - istotnie niższą aktywność fosfatazy alkalicznej u pacjentów heterozygotycznych (GT) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- **W zakresie polimorfizmu TaqI wykazano:**
- u chorych z NZJ - istotnie wyższą wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
 - u chorych z NZJ - istotnie niższą wartość hematokrytu u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)
 - u chorych z NZJ - istotnie niższą liczbę limfocytów u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)
 - u chorych z NZJ i ChLC - istotnie wyższą liczbę płytek krwi u pacjentów heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

- u chorych z ChLC - istotnie wyższe stężenia CRP u pacjentów z homozygotą recesywną (CC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą (TT)
- u chorych z ChLC - istotnie niższą wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (TC) oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną
- u chorych z ChLC - istotnie wyższe stężenie albuminy u pacjentów heterozygotycznych (TC) oraz u osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą w stosunku do pacjentów z homozygotą recesywną
- u chorych z WZJG - istotnie niższą różnicą dotyczyła wartości wskaźnika wapniowo-kreatyninowego ($p=0,04$); u pacjentów heterozygotycznych (TC) wobec zmutowanego była istotnie niższa w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą
- u chorych z WZJG - istotnie wyższą wartość OB u pacjentów heterozygotycznych (TC) w stosunku do osób, u których stwierdzono homozygotę dominującą

6. Dyskusja

6.1 Wprowadzenie

Historia badań nad etiopatogenezą nieswoistych zapaleń jelit sięga połowy XIX wieku, a mimo to przyczyna tego przewlekłego zapalnego schorzenia jelit do tej pory nie została w pełni poznana. Jako jeden z pierwszych wrzodziejące zapalenie jelita grubego w formie studium przypadku przedstawił w 1859 roku Wilks [218]. Schorzenie określane nazwą choroba Leśniowskiego - Crohna opisał po raz pierwszy w 1903 roku polski chirurg Antoni Leśniowski jako odcinkowe zapalenie jelit z największym nasileniem w końcowym fragmencie jelita krętego [219]. Dopiero w 1932 roku schorzenie to zostało przedstawione w amerykańskim czasopiśmie przez Crohn, Ginsberg i Oppenheimer i nazwane chorobą Crohna [220].

Przewód pokarmowy jest miejscem wchłaniania wapnia i fosforanów, proces ten jest regulowany m.in. poprzez działanie witaminy D [221]. Aktywna postać witaminy D wywiera wpływ na komórki jelita cienkiego w sposób bezpośredni i pośredni, czego końcowym efektem jest zwiększenie wchłaniania wapnia z przewodu pokarmowego. Poprzez swoje działanie pozareceptorowe, czyli w mechanizmie bezpośrednim, witamina D dzięki modyfikacji struktury fosfolipidów powoduje wzrost przepuszczalności błony enterocyta dla jonów wapnia. Mechanizm pośredni natomiast polega na produkcji białka wiążącego wapń (CaBP; *Calcium Binding Protein*) na drodze aktywacji genomu. Niedobór witaminy D skutkuje między innymi: hipokalcemią, wzrostem stężenia parathormonu, co w rezultacie doprowadza do zaburzeń gospodarki kostnej w organizmie. Badania nad przyczynami obniżonej gęstości kości u pacjentów pediatrycznych z NZJ były jednym z pierwszych impulsów przeprowadzenia analizy stężenia witaminy D w tej grupie pacjentów. Nieswoiste zapalenia jelit zalicza się do chorób przebiegających z zaburzeniami wchłaniania, a dzieci z NZJ należą do grupy ryzyka m.in. występowania zaburzeń gospodarki wapniowo - fosforanowej. Obserwuje się u nich często zaburzenia odżywiania czy opóźnienie wzrastania [116].

Doniesienia ostatnich lat skupiają się na immunomodulującej roli kalcytriolu. Aktywna postać witaminy D poprzez oddziaływanie na swój receptor wpływa na rozwój tolerancji immunologicznej [51]. Badania na zwierzętach dowodzą udziału witaminy D w prawidłowej odpowiedzi immunologicznej zachodzącej w obrębie jelita. Brak ekspresji genu *VDR* na mysich modelach zapalenia jelit nasilał przebieg

choroby, a podaż witaminy 1,25(OH)₂D zapobiegała i łagodziła objawy chorobowe NZJ u myszy pozbawionych IL-10 ("*IL-10 knock out mice*") [194]. Ponadto badania na zwierzętach oraz obserwacje epidemiologiczne u ludzi wykazały udział witaminy D w patogenezie chorób autoimmunizacyjnych, w których dominuje przewaga cytokin Th 1 - zależnych (stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów, cukrzyca typu 1). Ciekawe są również spostrzeżenia dotyczące związku polimorfizmów genu receptora VD z ryzykiem występowania NZJ [214] [215].

6.2 Charakterystyka grupy badanej

W celu oceny ewentualnej zależności między występowaniem i przebiegiem klinicznym NZJ, a obecnością polimorfizmów genu kodującego receptor witaminy D analizie poddano grupę 62 dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit (34 z chorobą Leśniowskiego - Crohna i 28 z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego) oraz 47 dzieci z grupy porównawczej.

Na podstawie wnikliwej analizy badania podmiotowego, przedmiotowego oraz wyników badań dodatkowych (laboratoryjnych, endoskopowych oraz histopatologicznych) wydaje się, że opisana w niniejszej pracy grupa pacjentów z NZJ była reprezentatywna. Średni wiek w chwili badania wynosił 14,39 +/-3 lat. W badanych grupach i podgrupach przeważała płeć męska. Większość stanowiły dzieci z chorobą Leśniowskiego - Crohna, stosunek liczby chorych ChLC:WZJG wynosił 1,2:1. Dane z piśmiennictwa poddające analizie epidemiologicznej populację dzieci z NZJ są porównywalne z tymi, które opisują badaną w niniejszej pracy grupę chorych z NZJ [222].

W badaniach własnych biorąc pod uwagę stan odżywienia pacjentów (percentyl masy ciała i wzrostu względem płci i wieku, wartość BMI, percentyl BMI względem płci i wieku) wykazano, że dzieci w grupie badanej były znamienne niższe i o mniejszej masie ciała w stosunku do dzieci z grupy porównawczej, a w podgrupach badanych to pacjenci z ChLC wykazywali najniższe parametry stanu odżywienia. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w reprezentacji płci w poszczególnych grupach i podgrupach badanych.

Podkreślić należy, że pod względem parametru percentyla BMI względem płci i wieku większość pacjentów z NZJ miało wartości prawidłowe (pomiędzy 5 - 85 percentylem), jedynie u 8 chorych z ChLC i 2 z WZJG stwierdzono niedożywienie

(wartości BMI < 5 percentyla), a nadwagę lub otyłość u 1 pacjenta z ChLC i u 2 z WZJG.

Niedożywienie i związane z tym opóźnienie wzrastania i dojrzewania płciowego jest jednym z najczęstszych powikłań NZJ w wieku rozwojowym, ale równocześnie może być jednym z pierwszych objawów tej choroby [176]. Według piśmiennictwa opóźnienie wzrastania dotyczy do 10% pacjentów z WZJG, gdzie w głównej mierze jest efektem długotrwałej terapii GKS oraz do 20-30% pacjentów z ChLC, gdzie patogenezą jest wieloczynnikowa, a jako przyczyny wymienia się między innymi przewlekłe niedożywienie, terapię GKS, a także efekt działania cytokin prozapalnych uwalnianych przez zajęte procesem chorobowym jelito, co z kolei wpływa niekorzystnie na metabolizm kostny [176].

Kugathasan i wsp. w badaniach dotyczących oceny stanu odżywienia niemal 800 pacjentów w krótkim czasie po rozpoznaniu NZJ wykazali, iż u większości z nich wartości BMI zarówno w grupie z ChLC jak i WZJG były w normie dla wieku i płci, jednakże aż u 20-30% pacjentów z WZJG i 10% pacjentów z ChLC stwierdzono nadwagę lub otyłość [223].

Z obserwacji grupy badanej wynika, iż z 14 na 62 (22,5%) pacjentów z NZJ, u których w chwili włączenia do analizy upłynęły maksimum 3 miesiące od momentu ustalenia diagnozy, u 2 stwierdzono niedożywienie oceniane percentylem BMI dla wieku i płci, a u 2 nadwagę, pozostali pacjenci byli prawidłowo odżywieni.

W badanej grupie chorych rozpoznanie NZJ ustalano na podstawie wywiadu, badania fizykalnego oraz wyników badań dodatkowych.

W momencie rozpoznania, jak i włączenia do niniejszego badania, w analizowanej grupie dzieci z ChLC najczęstszymi prezentowanymi objawami klinicznymi były: ból brzucha, osłabienie i biegunka, natomiast u pacjentów z WZJG: biegunka, krew w stolcu i bóle brzucha. Objawem znamiennej częściej występującym u chorych z WZJG była obecność krwi w stolcu.

Analiza obrazu klinicznego przeprowadzona w oparciu o dane z polskiego pediatrycznego ośrodka gastroenterologicznego wykazała częstsze występowanie u dzieci z ChLC bólów brzucha i gorączki natomiast u pacjentów z WZJG zdecydowanie częściej obserwowano nieprawidłowe stolce [175].

Podkreślenia wymaga fakt częstszego u dzieci w porównaniu z dorosłymi chorymi z NZJ występowania niedożywienia oraz związanego z tym opóźnienia wzrastania,

opóźnienia wieku kostnego i dojrzewania płciowego [175]. Zaburzenia dojrzewania płciowego częściej obserwowane są w przebiegu ChLC, w porównaniu z dziećmi z WZJG - jedynie u 25% dziewcząt z ChLC menarche występuje przed 16 rokiem życia [175]. U młodszych dzieci niedostateczne tempo wzrastania może być jednym z pierwszych objawów choroby, występującym nawet na 1-3 lata przed ustaleniem rozpoznania NZJ [123].

W badanej grupie chorych z NZJ parametry stanu zapalnego (CRP, liczba białych krwinek i płytek krwi, odsetek granulocytów w badaniu morfotycznym krwi) były znamienne wyższe w porównaniu z wynikami w grupie porównawczej. W grupie dzieci chorych wykazano również podwyższoną średnią wartość OB.

Dane z piśmiennictwa wskazują, że wśród markerów laboratoryjnych właśnie CRP jest obiektywnym wskaźnikiem stanu zapalnego i koreluje z aktywnością choroby Leśniowskiego - Crohna [224]. Białko C-reaktywne ma krótki okres półtrwania (19 godzin) w porównaniu do innych białek ostrej fazy, jego poziom wzrasta szybko już w pierwszym etapie stanu zapalnego i gwałtownie opada w momencie wygaszania reakcji zapalnej. Warto jednak zwrócić uwagę, że mimo iż wartość CRP wzrasta w przebiegu większości chorób zapalnych, w tym także w NZJ, to faktycznie zaostrzenie ChLC wyzwała silną odpowiedź CRP, natomiast u chorych z WZJG odpowiedź ta jest słabsza lub wręcz nie występuje [224]. Przyczyna odmiennego zachowania się stężenia białka C-reaktywnego w ChLC i WZJG nie jest wyjaśniona. Odczen Biernackiego (OB) jest wskaźnikiem mniej czułym i swoistym. Jego wartość zmienia się powoli (zwykle w ciągu dni). Na szybkość OB wpływają także inne poza obecnością stanu zapalnego czynniki np. liczba i wielkość erytrocytów (niedokrwistość, policytomia, talasemia) oraz wiek pacjenta [225].

Według kryteriów PORTO wykazanie obniżonego stężenia hemoglobiny, podwyższonych markerów stanu zapalnego, podwyższonej liczby płytek krwi i niskiego stężenia albuminy w osoczu u pacjentów prezentujących objawy wskazujące na proces zapalny w obrębie jelit sugerują rozpoznanie NZJ [173]. W badaniu przeprowadzonym przez Cabrera i wsp. wykazano wysoką dodatnią wartość predykcyjną dla NZJ (90%) w przypadku współwystępowania niedokrwistości i trombocytozy [226].

W niniejszym badaniu wykazano znamienne niższe stężenie hemoglobiny i wyższą liczbę płytek u pacjentów z NZJ w stosunku do grupy porównawczej. Różnice te były również istotne statystycznie w odniesieniu do podgrup badanych (ChLC,

WZJG) w stosunku do grupy porównawczej. Stężenie albuminy w surowicy krwi u niemal wszystkich pacjentów (88,7%) z NZJ było w zakresie wartości referencyjnych, nie wykazano korelacji między stężeniem albuminy a stanem odżywienia pacjentów z NZJ.

Podsumowując charakterystykę badanej grupy dzieci z NZJ, wydaje się, że stanowić ona może wiarygodny model do analizy statusu witaminy D, zaburzeń gospodarki wapniowo - fosforanowej oraz poszukiwania ewentualnego związku polimorfizmów genu receptora witaminy D z występowaniem oraz przebiegiem NZJ u dzieci.

6.3 Analiza stężenia witaminy D w grupie dzieci z NZJ i w grupie porównawczej

W przeprowadzonym badaniu średnie stężenie witaminy D w grupie badawczej wynosiło 19,87 ng/ml (w podgrupie chorych z ChLC - 20,21 ng/ml, z WZJG - 19,45 ng/ml) i było znamienne wyższe niż w grupie porównawczej, gdzie wynosiło 16,07 ng/ml ($p=0,03$). Prawidłowe stężenie 25(OH)D, definiowane jako wartości w przedziale 30-50 ng/ml, stwierdzono jedynie u 9,7% dzieci z NZJ i 4,25% dzieci z grupy porównawczej. Nie obserwowano różnicy w stężeniu witaminy D w zależności od płci czy wieku badanych dzieci.

W ostatnim czasie ukazały się dwie metaanalizy rozpatrujące stężenie witaminy D w podgrupach chorych z NZJ. Lu i wsp. po przeglądzie ponad 100 doniesień w naukowych bazach danych analizujących status witaminy D wyodrębnili 13 publikacji, na podstawie których wykazano u pacjentów z ChLC i WZJG niższe stężenie 25(OH)D w porównaniu do grupy kontrolnej. Chorzy z ChLC mieli prawie 2-krotnie, a pacjenci z WZJG ponad 2-krotnie większe ryzyko niedoboru witaminy D niż grupa porównawcza [227]. Jednakże tylko 3 doniesienia dotyczyły populacji pediatrycznej, a uzyskane wyniki nie były jednoznaczne - w jednym przypadku pacjenci z NZJ mieli niższe stężenie witaminy D w porównaniu do grupy kontrolnej, w pozostałych dwóch stężenie 25(OH)D były porównywalne w obu grupach dzieci-chorych i kontrolnej [227].

Druga metaanaliza przeprowadzona przez Del Pinto i wsp. oparta na 14 pracach analizujących 1891 uczestników, wykazała większe ryzyko niedoboru witaminy D w grupie chorych z NZJ w porównaniu z grupą kontrolną, u pacjentów z WZJG szansa wystąpienia niedoboru witaminy D była dwukrotnie większa w porównaniu do kontroli [228].

Wśród przyczyn niedoboru witaminy D u chorych z NZJ wymienia się m.in. enteropatię z utratą białka. Zdecydowana większość krążącej we krwi witaminy D i jej metabolitów związana jest z białkiem DBP, a z całkowitej puli jedynie 0,04% 25(OH)D i 0,4% 1,25(OH)₂D pozostaje w postaci wolnej. W przypadku przewlekłego stanu zapalnego jelita dochodzi do utraty białek, w tym albuminy oraz należącego do alfa-globulin białka DBP [116].

Pappa i wsp. w badaniu przeprowadzonym na grupie 130 dzieci z NZJ wykazali, iż obniżone stężenie albuminy w surowicy jest jednym z czynników ryzyka niedoboru witaminy D w tej grupie chorych, a stężenie witaminy D wzrasta o ponad 10% w przeliczeniu na wzrost stężenia tego białka we krwi o 1 g/dL [116] [229].

W badanej grupie dzieci (NZJ i porównawczej) oceniając parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej wykazano istotnie niższe stężenie 25(OH)D w grupie porównawczej w stosunku do grupy pacjentów z NZJ ($p=0,03$). Natomiast stężenie wapnia całkowitego w surowicy krwi było istotnie wyższe w grupie porównawczej niż w grupie badawczej (NZJ) ($p<0,001$), choć w obydwu grupach dzieci średnie wartości stężenia wapnia mieściły się w zakresie normy referencyjnej. Pozostałe parametry oceniające gospodarkę wapniowo-fosforanową nie różniły się istotnie między analizowanymi grupami (stężenie PTH i fosforu, aktywność fosfatazy alkalicznej, wskaźnik wapniowo-kreatyninowy w badaniu porcjowym moczu).

W niniejszych badaniach nie wykazano korelacji między stężeniem witaminy D i PTH w grupie dzieci z NZJ (ChLC, WZJG) oraz w grupie porównawczej. Dane z piśmiennictwa przedstawiają zwykle ujemną korelację między stężeniem 25(OH)D a PTH w grupie zdrowych dzieci i dorosłych [230], jednakże zależność ta nie została jednoznacznie potwierdzona u chorych z NZJ. Niektórzy badacze obserwowali zwiększoną częstość wtórnej nadczynności przytarczyc tylko u chorych po zabiegu operacyjnym (resekcji fragmentu jelita) czy też u pacjentów niedożywionych z ChLC [231]. W innych analizach wykazywano prawidłowe bądź obniżone stężenie PTH u chorych z NZJ mimo jednoczesnego obniżonego poziomu 25(OH)D [206]. Podobne spostrzeżenia zostały poczynione także w populacji pediatrycznej z tym schorzeniem, choć w jednym badaniu zaobserwowano wzrost stężenia PTH po leczeniu pacjentów z ChLC [213] [212]. Brak korelacji między stężeniem 25(OH)D a PTH może wynikać z faktu, iż u pacjentów z NZJ proces resorpcji kości występuje niezależnie od niedoboru witaminy D i jest głównie związany z przewlekłym stanem zapalnym [116]. Proces resorpcji kości oraz ewentualna

suplementacja witaminy D utrzymuje stężenie wapnia w surowicy w zakresie prawidłowych wartości, zmniejszając ryzyko wystąpienia wtórnej nadczynności przytarczyc, mimo stwierdzanego niedoboru witaminy D. Możliwe, iż u chorych w remisji obniżone stężenie witaminy D prowadzi do wzrostu stężenia PTH, łącznie z wszystkimi tego negatywnymi konsekwencjami. Wskazuje to na konieczność odpowiedniej suplementacji witaminy D w tej grupie chorych również w okresie remisji.

W analizowanej grupie dzieci złamania kości znacznie częściej występowały u chorych z NZJ (17,78% vs 6,38%) niż w grupie porównawczej, w podgrupach badanych z NZJ patologia ta była częściej opisywana u pacjentów z ChLC niż z WZJG (7 vs 4). Nie wykazano natomiast różnicy w stężeniu witaminy D w zależności od obecności złamań w wywiadzie w analizowanych podgrupach badanych. Należy jednak zaznaczyć, że złamania kości występowały jedynie u pojedynczych chorych w związku z tym trudno z poczynionych obserwacji wyciągać ogólne, wiążące wnioski.

Zaburzenia mineralizacji i metabolizmu kostnego, nieprawidłowa masa kostna, jej geometria u dzieci i młodzieży z NZJ są efektem działania wielu czynników. Wydaje się, że jednym z najważniejszych są cytokiny prozapalne wywierające negatywny wpływ na funkcję osteoblastów, ich różnicowanie, tworzenie kości oraz mineralizację macierzy. Niekorzystne działanie ma również przedłużona terapia GKS w wysokich dawkach, obniżona beztłuszczowa masa ciała, nieodpowiednie żywienie, niedobór witaminy D, wapnia, zaburzenia wzrastania i opóźnienie dojrzewania związane ze względnym niedoborem hormonów (płciowych) czy opornością na ich działanie (hormon wzrostu i IGF-1). Dane z piśmiennictwa sugerują, iż nieswoiste zapalenie jelit nie wpływa na częstość złamań kości długich, ale może być czynnikiem ryzyka złamań kręgow [232] [233].

W badaniach własnych nie przeprowadzono oceny struktury i gęstości kości, co nie pozwoliło na poszukiwanie związku między stężeniem witaminy D a gęstością kości w analizowanej grupie dzieci.

U dzieci z NZJ częściej niż w populacji zdrowej występuje obniżona gęstość mineralna kości, co w efekcie może prowadzić do suboptymalnej szczytowej masy kostnej. Wyniki przeprowadzonych badań nie wyjaśniają jednoznacznie przyczyn związku obniżonej gęstości mineralnej kości z niskim stężeniem witaminy D u chorych z NZJ. W niektórych analizach dotyczących pacjentów dorosłych z NZJ

wykazano odwrotną zależność między stężeniem witaminy D a gęstością mineralną kości [116], jednakże pojedyncze badania dotyczące dzieci z ChLC oraz część obserwacji dorosłych chorych z NZJ nie potwierdzają powyższego związku [234].

Analiza dynamicznej równowagi pomiędzy procesami tworzenia i resorpcji kości u pacjentów z NZJ była przedmiotem zainteresowania wielu badaczy. Jednak wyniki badań oceniających markery tworzenia jak i resorpcji kości są niejednoznaczne [116]. Gokhale i wsp. w badaniach przeprowadzonych w grupie dzieci z NZJ, wykazała podwyższone stężenie osteokalcyny (u chłopców) [213], inni badacze natomiast stwierdzili obniżone stężenie markerów tworzenia jak i resorpcji kości u wszystkich pacjentów [116]. Ocena związku stężenia 25(OH)D i markerów obrotu kostnego u pacjentów z NZJ wykazała ich ujemną korelację oraz sezonową zmienność [116].

6.3.1 Stężenie witaminy D a aktywność i lokalizacja choroby

W niniejszej pracy w ocenie stopnia ciężkości przebiegu WZJG wykorzystywano skalę Truelove-Wittsa, a w przypadku ChLC skalę PCDAI (*Pediatric Crohn's Disease Activity Index*), obydwie w modyfikacji Ryżki i Woynarowskiego [180].

U większości dzieci z ChLC w momencie włączenia do badania stwierdzono łagodną postać choroby (47,06%) lub brak jej aktywności (29,41%); podobnie w grupie dzieci z WZJG u większości z nich (46,43%) w momencie badania stwierdzono umiarkowaną postać schorzenia.

U 42,9% badanych pacjentów z WZJG proces chorobowy dotyczył rozległej części okrężnicy (postać E3 w klasyfikacji endoskopowej - zmiany położone dystalnie od zgięcia wątrobowego), u pacjentów z ChLC dotyczył głównie okrężnicy lub okrężnicy i jelita krętego (postać L2, L3).

W dostępnym piśmiennictwie podkreśla się, iż u dzieci z WZJG częściej (nawet do 90% w momencie rozpoznania) występuje postać "*pancolitis*", zajmująca niemal całe jelito grube, zaś u dorosłych z WZJG proces chorobowy ograniczony jest głównie do odbytnicy lub lewej części okrężnicy [174][235].

Na podstawie rejestru EUROKIDS, przeprowadzonego na grupie 582 osób, u dzieci z ChLC jako najczęstszą lokalizację endoskopową procesu chorobowego wskazywano, podobnie jak w niniejszej pracy, także zajęcie okrężnicy i jelita krętego (53%) lub jedynie okrężnicy (27%) [236].

6.3.2 Stężenie witaminy D a stosowana terapia NZJ

W momencie badania chorzy z NZJ byli w trakcie terapii preparatami aminosalicylanów, większość pacjentów z ChLC (70,5%) stosowała preparat Pentasa, a z WZJG (67,8%) Asamax. Niemal połowa (46,8%) pacjentów była w trakcie sterydoterapii, 18 pacjentów otrzymywało leczenie immunosupresyjne a 7 leczenie biologiczne.

Stosowane w analizowanej grupie dzieci leczenie jest zgodne z zaleceniami ECCO/ESPGHAN dla terapii pacjentów pediatrycznych z NZJ [183] [184]. Ekspertcy wymienili grupę dzieci z WZJG jako grupę ryzyka niedoboru witaminy D, choć nie wykazano u nich jednoznacznego związku z osteopenią [184]. W tej grupie zaleca się regularne monitorowanie stężenia 25(OH)D w surowicy oraz odpowiednią jej suplementację w zależności od stwierdzanego poziomu we krwi, zwłaszcza u pacjentów z obniżoną gęstością kości [184].

W badanej grupie dzieci z NZJ ponad połowa z nich w momencie analizy przyjmowała preparaty witaminy D (15 z ChLC, 18 z WZJG), 5 pacjentów przyjmowało tran oraz 17 preparaty wielowitaminowe.

Levin i wsp. wykazali, iż u dzieci z NZJ, które otrzymywały wyższe dawki GKS stwierdzono niższe stężenie witaminy D w porównaniu do dzieci, które otrzymywały mniejsze dawki GKS [237]. Nie wykazano bezpośredniego związku między aktywnością choroby czy jej lokalizacją a poziomem witaminy D. Przyjmując jednak wdrożone leczenie (sterydoterapia) jako miernik nasilenia przebiegu NZJ, można pośrednio wnioskować, że u pacjentów, u których zdecydowano się na sterydoterapię obserwowano bardziej nasilone zmiany chorobowe. Być może niższe stężenie witaminy D u tych chorych nie jest tylko rezultatem sterydoterapii, ale także stopnia nasilenia zmian zapalnych [237].

Negatywny wpływ GKS na układ kostny jest istotny przede wszystkim w okresie intensywnego wzrostu. Sterydy powodują długotrwałe upośledzenie procesu tworzenia kości poprzez obniżone różnicowanie, aktywność i czas przeżycia osteoblastów oraz zwiększają proces resorpcji kości przez osteoklasty. Ponadto poprzez swoje działanie pozaszkieletowe obniżają wchłanianie wapnia w jelicie, zwiększają jego utratę drogą nerek, obniżają produkcję i działanie hormonów płciowych oraz osłabiają siłę mięśniową [238].

W zaleceniach ECCO/ESPGHAN dotyczących terapii dzieci z NZJ podkreśla się istotną rolę leczenia żywieniowego, szczególnie u chorych z ChLC. Uważa się, że ta

forma terapii u tych chorych może prowadzić do uzyskania „głębokiej” remisji, czyli osiągnięcie "gojenia śluzówkowego" [183].

W przeprowadzonym badaniu stężenie witaminy D w grupie dzieci stosujących w chwili włączenia do analizy leczenie żywieniowe (dojelitowe i pozajelitowe) było wyższe (23,8 ng/ml) w porównaniu do grupy dzieci, u których nie stosowano tej formy terapii (18,92 ng/ml), nie była to jednak różnica istotna statystycznie ($p=0,14$). Wśród przyczyn mogących tłumaczyć ten efekt wymienia się zwiększone wchłanianie jelitowe m.in. witaminy D, które jest właśnie wynikiem wspomnianego gojenia śluzówkowego. Ponadto leczenie żywieniowe wywiera pozytywny wpływ na obrót kostny. W badaniu przeprowadzonym przez Whitten i wsp. w grupie dzieci z ChLC po 8 tygodniach dojelitowego leczenia żywieniowego wykazano wzrost stężenia markerów tworzenia kości przy jednoczesnym spadku markerów resorpcji [239].

W pracy wykazano również istotnie wyższe stężenie witaminy D w grupie dzieci z ChLC przyjmujących w momencie analizy leki biologiczne (30,38 ng/ml) w stosunku do chorych z ChLC i WZJG nie będących w trakcie powyższej terapii oraz grupy porównawczej.

Wiadomo, że czynnik martwicy nowotworu (TNF alfa) wywiera różnorodne działania na metabolizm kostny. Wpływa on m.in. na zwiększenie ekspresji RANK-L (*Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*), zwanego inaczej czynnikiem różnicowanie osteoklastów (ODF, *osteoclast differentiation factor*) prowadząc do powstawania osteoklastów oraz pobudza ich działanie resorpcyjne kości. Ponadto zwiększa czas przeżycia dojrzałych osteoklastów oraz chroni je przed apoptozą [240]. Być może właśnie ten patomechanizm może przynajmniej częściowo tłumaczyć wyższe poziomy witaminy D obserwowane u chorych z NZJ, u których stosowano przeciwciała anti-TNF alfa. Warto ponadto wspomnieć o badaniu REACH dotyczącym stosowaniu infliximabu w terapii indukcyjnej i podtrzymującej u dzieci z ChLC, gdzie po 10 tygodniach uzyskano imponujący wzrost stężenia markerów tworzenia kości [241].

6.3.3 Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce

Sugeruje się, iż jedną z przyczyn niedoboru witaminy D u pacjentów z NZJ może być obniżona ekspozycja na słońce wynikająca z faktu ograniczenia m.in. przez hospitalizację, czasu spędzanego przez nich na świeżym powietrzu oraz unikania

nasłonecznienia w związku ze stosowaniem leków immunosupresyjnych i GKS [51] [237]. Obniżona ekspozycja na światło słoneczne i w konsekwencji zmniejszona synteza skórna witaminy D skutkująca jej niedoborem były przedmiotem licznych badań analizujących etiopatogenezę chorób autoimmunizacyjnych, których występowanie jest bardziej powszechne w północnych szerokościach geograficznych. Nerich i wsp. wykazali, że zwiększona ekspozycja na promieniowanie słoneczne była związana ze znaczącym obniżeniem ryzyka wystąpienia ChLC, podobnej zależności nie obserwowano natomiast u chorych z WZJG [242]. Interesujące obserwacje poczyniono analizując populację kobiet we Francji. Podobnie jak Nerich i wsp. wykazano bowiem, że obniżona ekspozycja na słońce wiąże się ze zwiększoną częstością zachorowania na ChLC, jednak suplementacja witaminą D nie zmniejszała ryzyka zachorowania [243].

W badaniu przeprowadzonym przez Pappa i wsp. w grupie 448 dzieci z NZJ wykazano o ponad 10% wyższe stężenie 25(OH)D oceniane latem i jesienią w porównaniu do stężenia badanego zimą i wiosną [229].

Badania Limketkai i wsp., w których analizie retrospektywnej poddano ogromną, bo liczącą ponad milion osób grupę – pacjentów z NZJ i osób zdrowych (649,932 chorych z ChLC i 384,267 chorych z WZJG oraz w grupie kontrolnej 288,894 osób); wykazały, iż obniżona ekspozycja na słońce wiązała się u chorych z wyższym ryzykiem hospitalizacji, dłuższym pobytem w szpitalu oraz częstszą koniecznością interwencji chirurgicznej [244].

W niniejszej pracy w momencie przeprowadzenia analizy większość osób z grupy badawczej oraz cała grupa porównawcza miała wykonywane oznaczenie stężenia 25(OH)D w okresie zimowym, nie wykazano różnicy istotnej statystycznie między stężeniem witaminy D a porą roku.

W związku z tym analizie poddano także dane z wywiadu na temat częstości ekspozycji na słońce w różnych porach roku. Większość dzieci z NZJ (i ich opiekunów) deklarowała, iż przebywa codziennie lub kilka razy dziennie co najmniej 30 minut na świeżym powietrzu przez cały rok, jednakże dzieci z grupy porównawczej spędzały w tych warunkach więcej czasu.

W analizowanej grupie dzieci stężenie witaminy D korelowało z częstością ekspozycji na słońce.

Levin i wsp. w badaniu przeprowadzonym w grupie 78 australijskich dzieci z NZJ wykazali niższe stężenie witaminy D w zimie i jesienią w porównaniu do badań

wykonywanych latem i wiosną, nie miało to jednak związku z lokalizacją czy aktywnością choroby [237].

Alkhoury i wsp. u 61 dzieci z NZJ i w grupie kontrolnej wykazali, iż latem było najmniej osób z niedoborem witaminy D, w porównaniu do pozostałych pór roku, jednakże różnica nie była istotna statystycznie. Niedobór witaminy D stwierdzono u 62% chorych z NZJ i u 75% w grupie kontrolnej [245].

Dotychczasowe badania wskazują, iż najniższy poziom witaminy D występuje wczesną wiosną, a najwyższy wczesną jesienią [246].

Sentongo i wsp. jako główne czynniki ryzyka niedoboru witaminy D u dzieci z NZJ wskazują: porę roku (zima), rasę (czarna), zajęcie przez proces choroby górnego odcinka przewodu pokarmowego oraz długi okres sterydoterapii [234].

6.3.4 Stężenie witaminy D a dieta w analizowanych grupach dzieci

W ostatnich kilkudziesięciu latach w krajach Europy Zachodniej nastąpił 4-krotny wzrost zapadalności na NZJ [236]. Wśród możliwych przyczyn tego zjawiska wymienia się: teorię higieniczną, częstsze stosowanie antybiotyków, ale również coraz wyraźniej podkreśla się zmiany w sposobie odżywiania się. Shoda i wsp. w badaniu przeprowadzonym w Japonii w latach 1966-1985 wykazali, że zwiększone ryzyko zachorowania na ChLC korelowało z wyższą zawartością tłuszczów, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych n-6 oraz białka zwierzęcego w diecie, natomiast odwrotnie ze spożyciem warzyw [247]. Przegląd piśmiennictwa przeprowadzony przez Hou i wsp. analizujący diety pacjentów z NZJ przed zachorowaniem, wykazał zwiększone spożycie cukru rafinowanego u pacjentów z ChLC [248], jednak badania interwencyjne polegające na zastosowaniu diety bogatej w błonnik i z niską zawartością cukrów nie przyniosły pozytywnych rezultatów. Przyczyną mogła być również zbyt duża ilość nierozpuszczalnego błonnika w diecie [248].

Żywienie dojelitowe jest obecnie uważane za leczenie pierwszego rzutu u dzieci i młodzieży w zaostrzeniach ChLC, zalecane jest na okres co najmniej 6 tygodni. Jednakże u około 50% tych chorych po powrocie do typowej diety doustnej w ciągu pół roku obserwuje się ponowne zaostrzenie choroby [249].

U chorych z WZJG krótkoterminowe całkowite żywienie pozajelitowe (tzw. *"bowel rest"*) w aktywnej postaci choroby nie jest efektywne. Niektórzy badacze

obserwowali jednakże zwiększone ryzyko zachorowania na WZJG lub zaostrzenia w przypadku spożywania dużych ilości czerwonego mięsa czy margaryny [249].

W celu zapewnienia odpowiedniej podaży witaminy D w diecie należałoby codziennie spożywać kilkanaście jaj, dużą ilość tłustych ryb lub wzbogacane produkty mleczne czy płatki zbożowe [43]. Skomponowanie takiego jadłospisu jest praktycznie niemożliwe.

Amerykanie w wytycznych NASPGHAN (*North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*) dotyczących opieki nad dziećmi i młodzieżą z NZJ zalecają rutynową ocenę sposobu ich odżywiania, ze szczególnym uwzględnieniem spożycia produktów bogatych w witaminę D [250].

Przeprowadzona w niniejszej pracy analiza dzienników żywieniowych wykazała niskie średnie dzienne spożycie witaminy D w diecie zarówno w grupie chorych z NZJ jak i w grupie porównawczej. Podobnie, dzienne spożycie wapnia było niższe w stosunku do zalecanej podaży w tej grupie wiekowej (800-1300 mg); u dzieci z NZJ wynosiło średnio 637,4 mg (ChLC 674 mg, WZJG 592,75 mg) i było niższe niż w grupie porównawczej (732,25 mg) (NZJ vs K $p=0,38$). Odnotowano również nieprawidłowy stosunek Ca:P, u chorych z NZJ wynosił on średnio 0,59 (ChLC 0,61, WZJG 0,57), a w grupie porównawczej 0,6 (prawidłowa wartość stosunku Ca:P w wieku poniemowlęcym wynosi 1,32) [251].

Pacjenci z NZJ często unikają nabiału z obawy przed złą tolerancją laktozy. W związku z tym oprócz spożywanej niewielkiej dawki witaminy D nie dostarczają organizmowi również odpowiedniej ilości wapnia. Obecnie rutynowo nie zaleca się unikania produktów mlecznych u chorych z NZJ, jedynie w przypadku występowania niepożądanych objawów tj. biegunki, wzdęć, bólów brzucha można ograniczyć spożycie laktozy [249].

W badaniach własnych 53% pacjentów z NZJ suplementowało witaminę D. Przyjmowana dzienna dawka wahała się od 200 IU do 6000 IU. Przeanalizowano stężenie 25(OH)D w surowicy krwi w zależności od dziennej dawki witaminy D (przedziały: <600 IU, 600 - 1000 IU, >1000 IU). Najwyższe stężenie witaminy 25(OH)D zaobserwowano przy jej suplementacji w dawce 600-1000 IU/dobę, jednak różnica nie była istotna statystycznie ($p=0,199$, $p=0,69$).

Wyniki dotychczasowych analiz nie są w pełni zgodne na temat optymalnej dawki witaminy D u chorych z NZJ. Szczególną uwagę zwraca raport opublikowany w 2011 roku przez Pappa i wsp. dotyczący stanu układu kostnego dzieci i młodzieży

z NZJ [252]. Autorzy zalecają dawkę witaminy D w ilości 800 -1000 IU dziennie, łącznie z 1000 - 1600 mg wapnia oraz coroczną, optymalnie w okresie wczesnowiosennym, kontrolę stężenia 25(OH)D we krwi. Oczekiwany celem suplementacji jest uzyskanie we krwi stężenia 25(OH)D powyżej 32 ng/ml, czego efektem jest optymalne plejotropowe działanie witaminy D w organizmie [252]. W przypadku znacznego niedoboru witaminy D zaleca się jej podaż w zakresie 140 000 - 600 000 IU łącznie w okresie 8-12 tygodni. Natomiast gdy stężenie 25(OH)D wynosi poniżej 20 ng/ml wskazane jest zastosowanie kumulacyjnej dawki 400 000 IU, w przypadku stężenia 20-32 ng/mL należy zastosować dawkę 250 000 IU, najlepiej w postaci cotygodniowej podaży 50 000 IU [252]. Dane literaturowe sugerują przewagę cholekalcyferolu nad ergokalcyferolem, jednak te dwie postaci witaminy D nie były bezpośrednio porównywane w badaniach u dzieci z NZJ [253]. Mimo, iż w badaniach własnych nie wykazano korelacji między stężeniem 25(OH)D, a stanem odżywienia dzieci z NZJ wyrażonym wskaźnikiem BMI, percentylem BMI i współczynnikiem Cole'a, w literaturze zwraca uwagę fakt związku nadwagi czy otyłości (wyrażonej m.in. BMI Z-score) z niedoborem witaminy D zarówno w populacji dzieci zdrowych jak i z NZJ [229] [254]. Jedną z głównych hipotez jako przyczynę niedoboru witaminy D wskazuje sekwestrację tego związku w tkance tłuszczowej co obniża jej biodostępność [229].

Jednym ze znanych czynników wpływających na zaburzenia wchłaniania witaminy D jest resekcja fragmentu jelita cienkiego, co może prowadzić do zaburzeń krążenia wątrobowo-jelitowego związków lipidowych. W konsekwencji zabiegu chirurgicznego może dojść do wstępującego zakażenia z jelita grubego oraz powstania stanu zapalnego w *ileum terminale* stwarzając tym samym barierę dla wchłaniania lipidów oraz w rezultacie doprowadzając do bakteryjnej dekonjugacji kwasów żółciowych [32]. W przebiegu przewlekłego procesu zapalnego w jelitach w przebiegu NZJ dochodzi do utraty białka drogą przewodu pokarmowego (enteropatia wysiękowa), a także witaminy D oraz białka wiążącego witaminę D (DBP) [255].

Potwierdzeniem zaburzeń wchłaniania witaminy D u pacjentów z ChLC są wyniki badań Farray i wsp., którzy po podaniu wysokiej dawki witaminy D₂ wykazali o 30% niższe jej stężenie u chorych w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami, którzy otrzymali analogiczną dawkę [256].

Hipoteza sugerująca zaburzenia krążenia jelitowo-wątrobowego metabolitów witaminy D jako przyczyny niedoboru witaminy D okazała się niewystarczająca. Clements i wsp. w swoich badaniach wykazali, iż pula krążącej witaminy D jest niewielka i nie wpływa znacząco na całkowite jej stężenie we krwi [257].

6.3.5 Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna w analizowanych grupach pacjentów

Aktywność fizyczna odgrywa ważną rolę w prawidłowym rozwoju dzieci i młodzieży. Codzienna aktywność fizyczna pozytywnie wpływa na wydajność układu oddechowego i krążenia, siłę mięśni, stymuluje prawidłowy wzrost i wytrzymałość kości, ponadto wywiera pozytywny efekt na funkcje poznawcze oraz czynniki psychospołeczne [258]. Niska aktywność fizyczna jest czynnikiem ryzyka chorób układu krążenia, cukrzycy czy osteoporozy [258].

W przeprowadzonej analizie 81,59% dzieci z ChLC i 81,24% z WZJG deklaroowało uprawianie aktywności fizycznej codziennie lub kilka razy w tygodniu przez co najmniej 30 minut przez cały rok w stosunku do 94,15% dzieci z grupy porównawczej. Aktywność fizyczna najczęściej była uprawiana wiosną.

Badania dotyczące oceny aktywności fizycznej u dzieci z NZJ są nieliczne. W badaniu przeprowadzonym przez Werkstetter i wsp. wykazano, iż dzieci i młodzież mimo dobrze kontrolowanego przebiegu choroby wykazywały obniżoną aktywność fizyczną, dotyczyło to zwłaszcza dziewcząt z lekkim przebiegiem choroby [258]. Aktywność fizyczna w okresie remisji czy w fazie niewielkiej aktywności choroby nie jest przeciwwskazana, jednak pacjenci z NZJ zwykle niechętnie uprawiają sport mimo stosunkowo dobrego stanu zdrowia, a w okresach zaostrzeń schorzenia aktywność fizyczna jest tym bardziej ograniczona.

6.3.6 Analiza stężenia witaminy D w grupie porównawczej

Interesująca jest obserwacja wynikająca z niniejszych badań wykazująca niższe stężenie 25(OH)D w grupie porównawczej (16,07 ng/ml) w stosunku do grupy dzieci z NZJ (19,87 ng/ml). Jedną z przyczyn tego zjawiska może być powszechny niedobór witaminy D u dzieci zdrowych, a szczególnie u nastolatków.

W szeroko zakrojonym badaniu amerykańskim NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) przeprowadzonym w latach 2001-2004 w grupie liczącej 6275 dzieci i młodzież w wieku od 1 do 21 lat wykazano niedobór witaminy

D określony jako stężenie 25(OH)D poniżej 15 ng/ml u 9% badanych, a stężenie suboptymalne definiowane jako poziom między 15-29 ng/ml u 60% badanych. Ekstrapolując te dane na całą populację dzieci amerykańskich można szacować, że około 60 milionów z nich ma niedobór witaminy 25(OH)D [254].

Warto zwrócić również uwagę na badanie HELENA (*Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence*) przeprowadzone w 1006-osobowej grupie młodzieży europejskiej [249], gdzie średni wiek uczestników badania - 14,9 lat był podobny do wieku dzieci z grupy porównawczej (w badaniach własnych). Średnie stężenie 25(OH)D w badaniu HELENA wynosiło 22,84 ng/ml, stężenie poniżej 30 ng/ml stwierdzono u 80% badanych. Stężenie witaminy D zwiększało się wraz z wiekiem i obniżało się wraz ze wzrostem wartości BMI [259].

Większość badań oceniających stężenie witaminy D w populacji pediatrycznej w Polsce przeprowadzono w grupie dzieci najmłodszych (noworodki, niemowlęta), dane dotyczące nastolatków są nieliczne [260]. W badaniu przeprowadzonym przez Karczmarewicz i wsp. u dzieci w wieku 2-19 lat wykazano średnie stężenie 25(OH)D 17,49 ng/ml i zaobserwowano odwrotnie proporcjonalną zależność stężenia 25(OH)D od wieku. W grupie wiekowej 2-4 lata wynosiło ono 24,06 ng/ml i wraz z wiekiem malało, by w badanej populacji nastolatków 12-16 lat osiągnąć średnie stężenie 14,32 ng/ml, a wśród młodzieży w przedziale wiekowym 17-19 lat - najniższe - 12,84 ng/ml [261]. W badaniach własnych średni wiek badanych w grupie porównawczej wynosił 13,97 lat, a wartości stężenia witaminy D były niskie (16,07 ng/ml) i porównywalne z analogiczną grupą wiekową w cytowanej analizie.

Obserwacja Wójcika i wsp. dotyczyła przeglądu danych konsultacyjnej poradni pediatrycznej z okresu trzech dekad na temat stężenia witaminy D oznaczanego u dzieci pozostających pod opieką medyczną w/w placówki [262]. Najwyższe wartości stężenia witaminy D wykazano u dzieci wieku do 3 lat, co wynika najpewniej ze stosowanej powszechnie profilaktyki przeciwkrzywicznej w najmłodszej grupie wiekowej. Niestety po przekroczeniu 3 roku życia średnie stężenia witaminy D wynosiły poniżej 30 ng/ml. Ponadto w trakcie analizowanych 30 lat zaobserwowano trend spadkowy średniego stężenia witaminy D w badanej grupie; w latach 1981-1999 wynosiło ono 51,79 ng/ml, a w latach 2010-2011 już tylko 28,82 ng/ml, co być może należy tłumaczyć zalecaniem niższych dawek witaminy D w późniejszych dekadach [262].

Grupę nastolatków można uznać za grupę ryzyka niedoboru witaminy D. Jak wykazały badania własne nieliczna grupa osób z grupy porównawczej (14,9% vs 53,2% w grupie dzieci chorych z NZJ) stosowała suplementację witaminy D w dawkach 200-1000 IU. Zawartość witaminy D oraz wapnia w diecie również nie spełniała zalecanych norm żywieniowych. Najprawdopodobniej są to główne przyczyny niższego stężenia 25(OH)D w surowicy w tej grupie dzieci.

Wiek młodzieńczy jest czasem krytycznym dla przyrostu masy kostnej, a niskie stężenia witaminy D wiążą się z obniżoną gęstością kości oraz złamaniami przeciążeniowymi [263] [264]. Ponadto badania przeprowadzone w grupie młodzieży amerykańskiej wykazały związek niedoboru witaminy D z występowaniem nadciśnienia tętniczego, hiperglikemii i zespołu metabolicznego, a prawidłowa suplementacja witaminy D była wiązana ze spadkiem ciśnienia tętniczego i lepszą insulinowrażliwością tkanek [263] [265].

Narchi i wsp. przeanalizowali 21 przypadków krzywicy u dzieci wieku 10-15 lat. Oprócz typowych objawów jak zniekształcenia kostne czy tężyczka, jedynymi objawami krzywicy u niektórych z tych pacjentów były: niespecyficzne bóle kończyn dolnych, osłabienie siły mięśniowej czy trudności w chodzeniu po schodach. Średnie spożycie wapnia w grupie dzieci chorych wynosiło 490 mg, witaminy D 112 IU, a średni dzienny czas ekspozycji na słońce to 15 minut [266].

W badaniu przeprowadzonym w grupie 1307 pacjentów w wieku od 0-89 lat zamieszkujących tereny Węgier oceniano związek między wiekiem, porą roku a stężeniem witaminy D [267]. Najwyższe wartości odnotowano latem, od stycznia do czerwca średnie stężenie witaminy D wzrastało minimalnie, następnie obserwowano spadek wartości stężenia witaminy D w okresie od września do grudnia. Najwyższe wartości osiągnęli najmłodsi pacjenci, a najniższe najstarsi. Średni wzrost stężenia latem wynosił od 20-23 ng/ml w grupie dzieci 0-9 lat, a najniższy 5-6 ng/ml u osób w wieku 70-89 lat. Najprawdopodobniej wiązało się to z długością czasu spędzanego na świeżym powietrzu oraz mniej efektywną syntezą skórną witaminy D u osób w wieku podeszłym [267].

Największy potencjał produkcji witaminy D występuje już w czerwcu, jednakże najwyższe średnie stężenie witaminy D w surowicy krwi obserwowano w sierpniu; 6 - tygodniowe opóźnienie wiąże się prawdopodobnie z czasem niezbędnym do wysycenia stężenia witaminy D w surowicy krwi [260].

Pozostałe czynniki ryzyka niedoboru witaminy D - szerokość geograficzna, stopień zachmurzenia, grubość warstwy ozonowej, zanieczyszczenie powietrza czy karnacja skóry były porównywalne w obydwu badanych grupach dzieci, nie poddawano je więc dalszej analizie [18] [19] [57] [58] [59] [268].

6.4 Polimorfizmy genu receptora witaminy D

Polimorfizm definiowany jako odmiana danego genu, z częstością występowania określonych alleli większą niż 1% w populacji, polega na niewielkiej zmienności sekwencji DNA, która występuje dość często i może mieć niewielki, ale uchwytany biologiczny efekt [269]. W związku z ich nierzadkim występowaniem w ludzkim genomie, są przedmiotem licznych badań nad ich ewentualnym związkiem z ryzykiem zachorowania na powszechnie występujące choroby. W wyniku polimorfizmu danego genu dochodzi do zmian w postaci wzmocnienia lub zahamowania transkrypcji, zmienionej aktywności post-transkrypcyjnej czy post-translacyjnej albo zmian w trzeciorzędowej strukturze produktu danego genu [270].

Dotychczas opisano ponad 60 polimorfizmów genu *VDR* (*Vitamin D Receptor*), większość dotyczy regionu promotora, eksonów 2-9 i regionu 3'UTR [271]. Ich związek z występowaniem różnych chorób jest nadal przedmiotem rozlicznych badań. Początkowo badacze skupili się na związku polimorfizmu genu *VDR* z parametrami metabolizmu kostnego, głównie z osteoporozą [271], w kolejnych latach zainteresowanie wzbudził związek polimorfizmów genu *VDR* z procesem nowotworzenia czy zaburzonymi procesami immunologicznymi [269].

W piśmiennictwie analizy częstości występowania poszczególnych genotypów polimorfizmów genu *VDR* prowadzone są od ponad dekady, jednak wnioski nadal są niejednoznaczne [214, 215].

W analizowanej grupie dzieci (z NZJ i w grupie porównawczej) poszukiwano polimorfizmów Cdx2, FokI, BsmI, ApaI oraz TaqI genu receptora witaminy D. Nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi grupami (NZJ, K) w zakresie wszystkich badanych polimorfizmów.

Podobnie nie wykazano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów pomiędzy badanymi podgrupami (ChLC, WZJG, K) w zakresie wszystkich badanych polimorfizmów.

Analizując związek polimorfizmów genu *VDR* ze stężeniem witaminy D w grupach i podgrupach badanych wykazano statystycznie istotną zależność w zakresie wyższego stężenia witaminy D w całej grupie pacjentów z NZJ oraz ChLC z homozygotą recesywną (genotyp TT) polimorfizmu TaqI w stosunku do homozygoty dominującej. Podobną zależność odnotowano u pacjentów z NZJ oraz ChLC z homozygotą recesywną (genotyp GG) polimorfizmu BsmI w stosunku do homozygoty dominującej.

Interesujących danych dostarczyła metaanaliza przeprowadzona przez Xue i wsp. badająca częstość występowania polimorfizmów genu *VDR* u chorych z NZJ [214]. Wykazano w niej związek między homozygotą recesywną (genotyp CC) polimorfizmu TaqI, a występowaniem ChLC wśród mieszkańców Europy. Mechanizm tego zjawiska jest jednak trudny do wyjaśnienia. W polimorfizmie TaqI dochodzi do zamiany tyminy na cytozynę w eksonie 9 od końca 3' genu *VDR*, co nie skutkuje zamianą aminokwasów gdyż obydwa kodony kodują izoleucynę. Jednak region genu, położony przy końcu 3', umiejscowiony w pobliżu polimorfizmu, jest zaangażowany w regulację ekspresji genu wpływającego na stabilność mRNA [214]. Wydaje się, że genotyp CC polimorfizmu TaqI może się wiązać z obniżonym stężeniem mRNA genu receptora witaminy D [272], co w rezultacie powoduje obniżenie stężenia aktywnej postaci witaminy D we krwi i zmniejsza jej hamujące działanie na IL-12 [273]. Zaangażowanie układu immunologicznego przejawia się jako wzmożona reakcja Th1-zależna prowadząc do zwiększonej podatności na ChLC. Należy brać pod uwagę także inną hipotezę zakładającą, że genotyp CC polimorfizmu TaqI może istnieć w nierównowadze sprzężeń (*linkage disequilibrium*) z innymi czynnikami zwiększającymi ryzyko występowania ChLC.

Kolejnym wnioskiem wynikającym z powyższej analizy była zwiększona częstość występowania homozygoty recesywnej (genotypu CC) polimorfizmu FokI wśród Azjatów. Polimorfizm FokI położony jest w regionie promotora końca 5' genu *VDR* i dochodzi w nim do zamiany tyminy na cytozynę w eksonie 2. Prowadzi to do syntezy białka dłuższego o 3 aminokwasy, które ma mniejszą zdolność aktywacji docelowych genów działania receptora VD [214]. Mniejsza aktywność VDR może wpływać na zwiększoną podatność na NZJ.

Wydaje się, że nosicielstwo allelu recesywnego (T; genotyp GT, TT) polimorfizmu ApaI ma działanie ochronne, jest związane z obniżonym ryzykiem zachorowania

na ChLC [239]. Polimorfizm ApaI jest zlokalizowany w intronie 8 końca 3' genu *VDR*, jednakże nie poznano dokładnie efektu zmiany guaniny na tyminę.

W metaanalizie dokonanej przez Wang i wsp. zwrócono uwagę na różnice w częstości występowania poszczególnych polimorfizmów w zależności od pochodzenia chorych (miejsca zamieszkania, rasy, grupy etnicznej) [215]. Allel T polimorfizmu TaqI występował u 55,04% do 65,96% przedstawicieli rasy kaukaskiej i aż u 94,35% osób zamieszkujących tereny wschodniej Azji. Być może na tę rozbieżność wpływa różne pochodzenie genetyczne lub odmienne czynniki środowiskowe, albo istnieją różne wzory nierównowagi sprzężeń [215]. Ponadto autorzy wykazali, iż polimorfizm ApaI wiązał się ze zwiększonym ryzykiem ChLC, a polimorfizm TaqI wykazywał działanie ochronne zmniejszając ryzyko zachorowania na WZJG [215].

Należy również wspomnieć o badaniu przeprowadzonym przez Hughes i wsp. na dużej grupie przedstawicieli rasy kaukaskiej - 660 chorych z NZJ oraz 699 osób zdrowych [274], gdzie nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmami FokI, BsmI, ApaI i TaqI genu *VDR* z ryzykiem wystąpienia NZJ. W przeprowadzonej wcześniej przez Simmons i wsp. analizie (w Wielkiej Brytanii) wykazano dwukrotnie większe ryzyko wystąpienia ChLC u chorych z homozygotą recesywną (CC) polimorfizmu TaqI [275].

Dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach badanych ChLC, WZJG wykazano związek między stopniem aktywności choroby u pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu FokI ($p=0,027$).

Ponadto dla analizowanej populacji dzieci z NZJ oraz w podgrupach chorych (ChLC, WZJG) wykazano związek między lokalizacją choroby wg paryskiej klasyfikacji endoskopowej u pacjentów z WZJG, a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D ($p=0,046$).

Badanie dotyczące związku polimorfizmu genu *VDR* z aktywnością choroby, jej lokalizacją czy wybranymi parametrami laboratoryjnymi u chorych z NZJ są nieliczne. W analizie przeprowadzonej przez Naderi i wsp. w grupie 230 Irańczyków z NZJ wykazano częstsze występowanie genotypu CC (homozygota recesywna) polimorfizmu FokI, jednakże nie obserwowano związku między występowaniem danego polimorfizmu a rozległością procesu chorobowego w przewodzie pokarmowym, lokalizacją endoskopową choroby czy jej aktywnością oraz koniecznością przeprowadzenia zabiegu chirurgicznego [276].

Martin i wsp. analizując związek między występowaniem polimorfizmu TaqI wśród 188 chorych z NZJ i w 115-osobowej grupie kontrolnej, a fenotypem choroby wykazał zwiększoną częstość homozygoty recesywnej u chorych z postacią przebiegającą ze zwężeniami i przetokami ($p=0,04$), natomiast obecność homozygoty dominującej miało znaczenie ochronne ($p=0,006$) [277].

W badaniu przeprowadzonym w Nowej Zelandii, kraju o jednym z najwyższych wskaźników zapadalności na NZJ, wykazano niższe stężenie witaminy D u chorych z ChLC w porównaniu do grupy kontrolnej. Niskie stężenie witaminy D korelowało z wiekiem i niewielką ekspozycją na słońce. Ponadto wykazano związek niskiego stężenia 25(OH)D i polimorfizmu TaqI genu *VDR* u chorych z ChLC oraz polimorfizmu ApaI genu *VDR* u osób w grupie kontrolnej [278].

Hustmeyer i wsp. wykazali natomiast związek genotypu TT polimorfizmu TaqI z niskim stężeniem witaminy D w zdrowej populacji [279].

Polimorfizmy ApaI i BsmI są rozważane jako "nieme" polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) nie powodujące zmiany w sekwencji aminokwasów kodujących białko, jednakże mogą mieć wpływ na ekspresję genów przez regulację stabilności mRNA [280].

Polimorfizm Cdx2 jako pierwszy był opisany wśród kobiet zamieszkujących Japonię, jednak później wykazano jego rozpowszechnienie także wśród przedstawicieli rasy kaukaskiej jak i innych grup etnicznych [88]. W polimorfizmie Cdx2 genu *VDR* dochodzi do zamiany guaniny na adeninę w regionie promotora, dokładnie w miejscu wiązania specyficznego jelitowego czynnika transkrypcji zwanego Cdx2 [281]. Allel A został opisany jako bardziej aktywny prowadzący do wiązania czynnika transkrypcyjnego Cdx2 zwiększając w ten sposób jego aktywność transkrypcyjną [282]. W konsekwencji może to skutkować zwiększoną ekspresją genu *VDR* w jelicie i zwiększoną gęstością mineralną kości poprzez zwiększone wchłanianie wapnia w przewodzie pokarmowym [282].

W badaniu przeprowadzonym przez Xia i wsp. wykazano, iż obecność zmutowanych alleli (genotyp CA+AA) polimorfizmu ApaI i niedoboru witaminy D korelowało ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia ChLC. Ponadto u pacjentów z ChLC, niedobór witaminy D wiązał się z obecnością zmutowanych alleli (genotyp TC+CC) polimorfizmu FokI oraz genotypami CA+AA polimorfizmu ApaI i genotypami TC+CC polimorfizmu TaqI [283].

Jako jedno z powikłań NZJ, szczególnie w WZJG, wymieniany jest rak jelita grubego. Wielu badaczy skupiło więc swoją uwagę na związku poszczególnych polimorfizmów genu *VDR* z nowotworami, w tym nowotworem jelita grubego. Dotychczasowe wyniki analiz są niejednoznaczne [269]. Uwagę zwraca badanie przeprowadzone w 2001 roku przez Ingles i wsp. w populacji mieszkańców Stanów Zjednoczonych, gdzie wykazano zwiększone ryzyko wystąpienia dużego (>1 cm) gruczolakoraka jelita grubego wśród osób z polimorfizmem Fok I spożywających małą ilość witaminy D i wapnia w diecie [284].

Poza szerokimi badaniami dotyczącymi działania przeciwnowotworowego witaminy D, wiele uwagi poświęca się również roli wapnia w procesie kancerogenezy. W badaniach doświadczalnych na zwierzętach wykazano, iż niskie stężenie zjonizowanego wewnątrzkomórkowego wapnia sprzyja proliferacji komórek, a zwiększone stężenia wapnia w hodowlach komórkowych obniża proliferację i zwiększa różnicowanie mysich komórek nabłonka jelita grubego, ale również nabłonka przetyku, naskórka czy gruczołu piersiowego [285].

Dla polimorfizmu Bsm I Slattery i wsp. wykazali obniżenie ryzyka zachorowania na nowotwór jelita grubego o 50% u osobników posiadających homozygotę dominującą (genotyp GG). Działanie ochronne miało także wysokie spożycie wapnia i witaminy D w diecie czy też duża ekspozycja na promieniowanie słoneczne [286]. Jednak w badaniu przeprowadzonym przez Kim i wsp. podobnie wykazano obniżone ryzyko zachorowania na raka jelita grubego o 23%, ale przy jednoczesnym niskim spożyciu witaminy D i wapnia [287]. Wymaga to dalszych badań oceniających ewentualną rolę polimorfizmu BsmI w procesie kancerogenezy jelita grubego.

W przypadku polimorfizmu TaqI wykazano obniżenie ryzyka zachorowania na raka jelita grubego u osób z homozygotą recesywną (genotyp CC), pozostająca w nierównowadze sprzężeń z homozygotą dominującą (genotyp GG) polimorfizmu BsmI. Podobnie częstość współwystępowania homozygoty dominującej (genotyp TT) polimorfizmu TaqI i heterozygoty polimorfizmu FokI (genotyp TC) czy heterozygoty polimorfizmu TaqI (genotyp TC) i heterozygoty polimorfizmu FokI (genotyp TC) była niska w porównaniu do innych genotypów, co może mieć działania ochronne przeciw temu typowi nowotworu [269].

Nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmem *Cdx2* a ryzykiem zachorowania na raka jelita grubego czy odbytnicy, niezależnie od spożycia wapnia, witaminy D czy tłuszczów w diecie [269].

Nierównowaga sprzężeń opisuje współwystępowanie alleli sąsiadujących ze sobą polimorfizmów [269]. W rezultacie obecność danego polimorfizmu przewiduje występowanie innego polimorfizmu z nim połączonego, gdyż w procesie ewolucji doszło między nimi do bardzo niewielkich rekombinacji. W przypadku istnienia wielu LD (*linkage disequilibrium*) w danym regionie genomu, liczba haplotypów definiowana jako zestaw alleli przyległych polimorfizmów, jest ograniczona. W przypadku genu *VDR* wykazano silną nierównowagę sprzężeń dla polimorfizmów BsmI, ApaI i TaqI. Stwierdzenie więc zwiększonego ryzyka zachorowania na raka jelita grubego dla jednego z powyższych polimorfizmów najprawdopodobniej wiąże się z jednoczesną obecnością pozostałych dwóch polimorfizmów. W przypadku oceny ryzyka nowotworu jelita grubego wykazano największe ryzyko dla obecności haplotypu baT i BAAt [269].

Przeprowadzona w niniejszej pracy analiza związku polimorfizmów genu *VDR* i wyników wybranych parametrów laboratoryjnych nie pozwala na wysunięcie jednoznacznych wniosków i wymaga badań na większej liczbie pacjentów. Również doniesienia na ten temat w piśmiennictwie są nieliczne. Większość badań dotyczyła związku polimorfizmów genu *VDR* z parametrami gospodarki wapniowo - fosforanowej. Tanabe i wsp. wykazali między innymi istotną dodatnią korelację pomiędzy aktywnością fosfatazy alkalicznej a stężeniem 25(OH)D u pacjentów z genotypem FF polimorfizmu Fok I, ale nie stwierdzono takiego związku u pacjentów z genotypem ff. Wyniki badań Tanabe i wsp. mogą pośrednio sugerować udział polimorfizmu genu *VDR* w rozwoju osteoporozy u młodych Japończyków [288]. Ponadto grupa analiz dotyczyła związku polimorfizmów genu *VDR* i parametrów stanu zapalnego. Li i wsp. w badaniu dotyczącym 91 dzieci z pozaszpitalnym zapaleniem płuc i 94-osobowej grupy kontrolnej wykazali wśród chorych zwiększoną częstość występowania genotypu TT (polimorfizm rs2239185 genu *VDR*, nie był oceniany w niniejszej pracy) z podwyższoną liczbą białych krwinek ($>10^9/L$), zwiększonym stężeniem CRP (>25 mg/L) i prokalcytoniny (>2 ng/mL) w porównaniu do wyników badań dzieci z grupy kontrolnej [289]. Zainteresowanie budzi również fakt związku polimorfizmów genu *VDR* z czynnikami ryzyka chorób metabolicznych i układu krążenia. Vimalasvaran i wsp. dokonali analizy zależności polimorfizmów genu *VDR* (rs7968585 i rs2239179) i stężenia 25(OH)D z parametrami związanymi z otyłością (wskaźnik BMI, obwód talii, wskaźnik talia - biodro), stanem układu krążenia (wartości ciśnienia tętniczego), cukrzycą (HbA_{1C}),

lipidogramem (lipoproteiny HDL, LDL, triglicerydy, całkowity cholesterol) i parametrami stanu zapalnego (CRP, fibrynogen, IGF-1, TPA). Wykazano jedynie istotny związek między polimorfizmem rs2239179 i stężeniem 25(OHD) a wskaźnikiem talia - biodro ($p=0.03$) [290].

6.5 Podsumowanie

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki badań oraz przegląd piśmiennictwa mogą być podstawą do dalszych analiz. Coraz więcej doniesień podkreśla rolę plejotropowego działania witaminy D, jednakże nadal brakuje prawidłowo zaprojektowanych badań randomizowanych dotyczących chorych z NZJ, szczególnie w populacji pediatrycznej. Ograniczeniem niniejszego badania był brak bezpośredniej oceny gęstości kości, co wzbogaciłoby naszą wiedzę w zakresie gospodarki wapniowo-fosforanowej i jej związku ze stężeniem witaminy D u chorych z NZJ. Ponadto uzyskane wyniki badań wielokrotnie, podobnie jak dane z piśmiennictwa, nie dostarczyły jednoznacznych odpowiedzi i powinny być kontynuowane na większych grupach chorych. Bezspornie wykazano jednak w populacji pediatrycznej chorych z NZJ konieczność regularnego monitorowania stężenia witaminy D we krwi oraz jej odpowiedniej suplementacji. Dodatkowym, ważnym wnioskiem jest konieczność podjęcia podobnych działań profilaktycznych wśród zdrowych dzieci, głównie w wieku szkolnym.

7. Wnioski

1. Zarówno w populacji dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit jak i w grupie porównawczej obserwowano niedobór witaminy D, dotyczył on w większym stopniu dzieci z grupy porównawczej. Sugeruje to konieczność suplementacji witaminy D w grupie dzieci chorujących na nieswoiste zapalenia jelit oraz u ich zdrowych rówieśników, zwłaszcza u nastolatków.
2. Wykazano, że codzienna ekspozycja na promieniowanie słoneczne, niezależnie od pory roku, wpływa korzystnie na stężenia witaminy D we krwi badanych dzieci. W związku z tym, wskazane jest promowanie przebywania dzieci na świeżym powietrzu.
3. Wydaje się, że stan odżywienia, styl życia badanych (dieta, aktywność fizyczna) nie modyfikują poziomu witaminy D we krwi. Obserwacje powyższe wymagają jednak weryfikacji w większych grupach badanych.
4. W związku z tym, że u badanych pacjentów z ChLC, mimo stwierdzenia rozległych zmian chorobowych w badaniu endoskopowym przewodu pokarmowego, wykazano wyższe stężenie witaminy D we krwi w porównaniu do grupy ze zmianami chorobowymi ograniczonymi do okrężnicy, można wnioskować o mniej nasilonych zaburzeniach wchłaniania w przebiegu tego schorzenia niż dotychczas sądzono.
5. W związku z tym, że nie obserwowano różnicy w częstości występowania badanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w grupie dzieci chorych i w grupie porównawczej, wydaje się, że analiza częstości ich występowania nie pozwala na szacowanie zapadalności na nieswoiste zapalenia jelit.
6. Ze względu na to, że występowanie genotypów heterozygotycznych dla polimorfizmów Cdx2 oraz BsmI genu receptora witaminy D zwiększa ryzyko zachorowania na nieswoiste zapalenia jelit, należy rozważyć poszukiwanie tych polimorfizmów w przypadku trudności diagnostycznych u pacjentów z objawami sugerującymi NZJ.

7. Wykazany związek obecności homozygoty recesywnej dla polimorfizmów TaqI oraz BsmI genu receptora witaminy D z wyższym stężeniem witaminy D we krwi pacjentów z NZJ być może wyjaśnia zróżnicowane poziomy tej witaminy w grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenie jelit. Obserwacje powyższe nie pozwalają jednak na wysunięcie jednoznacznych wniosków i wymagają badań w większej grupie pacjentów
8. Dla analizowanej populacji dzieci z WZJG wykazano wprawdzie związek między lokalizacją choroby w klasyfikacji paryskiej a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D oraz stopniem aktywności choroby i obecnością polimorfizmu FokI, jednak powyższe obserwacje wymagają szerokich badań w celu jednoznacznego potwierdzenia wpływu ich obecności na przebieg nieswoistych zapaleń jelit.
9. Wydaje się, że na tym etapie analizy wariantów genetycznych receptora witaminy D trudno formułować wiążące wnioski na temat wpływu ich obecności na wyniki parametrów laboratoryjnych.

8. Streszczenie

Wstęp: Doniesienia ostatnich lat sugerują powszechny niedobór witaminy D w populacji zarówno dziecięcej jak i u osób dorosłych. Dwie główne przyczyny niedoboru witaminy D to obniżona synteza skórna oraz niedostateczna podaż z pokarmem.

Dzieci z NZJ stanowią szczególną grupę ryzyka niedoboru witaminy D. W przebiegu procesu chorobowego dochodzi do upośledzenia wchłaniania, enteropatii z utratą białka wtórnie do stanu zapalnego w jelicie, w grupie tej w związku z chorobą ma miejsce obniżona ekspozycja na słońce oraz obniżona podaż witaminy D z dietą. Szczególnie należy zwrócić uwagę na problem hipowitaminozy D u dzieci z wczesnym początkiem i cięższym przebiegiem schorzenia, z niskim stężeniem albuminy, niższym BMI oraz odchyleniami w badaniu densytometrycznym. Dodatkowym, ważnym czynnikiem ryzyka jest objęcie procesem chorobowym górnego odcinka przewodu pokarmowego.

Dane z piśmiennictwa podkreślające udział witaminy D w różnych aspektach regulacji odpowiedzi immunologicznej ustroju, sugerują rozważenie jej zaangażowania nie tylko jako witaminy uczestniczącej w homeostazie wapniowo-fosforanowej, ale także jako mediatora auto- i parakrynnego z aktywnym udziałem w patomechanizmie wielu chorób, w tym nieswoistych zapaleniach jelit. W związku z tym, że wyniki większości badań analizujących status gospodarki wapniowo-fosforanowej w NZJ są niejednoznaczne, w ostatnich latach dyskusja skupia się na potencjalnej roli witaminy D jako czynnika ryzyka wystąpienia i ewolucji stanu zapalnego w jelicie.

Jednym z genów - kandydatów wymienianych w badaniach nad patogenezą NZJ jest gen receptora witaminy D (12q12-14). Do najczęstszych polimorfizmów genu *VDR* należą warianty ApaI, TaqI, BsmI, FokI oraz Cdx2.

Hipoteza badawcza: U dzieci chorujących na nieswoiste zapalenie jelit występuje obniżony poziom witaminy D we krwi oraz stwierdza się zaburzenia w zakresie gospodarki wapniowo-fosforanowej. Istnieje związek między obecnością polimorfizmów genu kodującego receptor witaminy D, a przebiegiem nieswoistych zapaleń jelit u dzieci.

Cel pracy:

1. Ocena stopnia niedoboru witaminy D w populacji dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit w porównaniu do dzieci z grupy kontrolnej.
2. Poszukiwanie czynników mogących mieć wpływ na stężenie we krwi witaminy D w grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit oraz w grupie kontrolnej.
3. Ocena częstości występowania analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w badanej grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenia jelit oraz w grupie kontrolnej.
4. Poszukiwanie ewentualnego związku obecności polimorfizmów: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI i TaqI genu receptora witaminy D (*VDR, vitamin D receptor*) z predyspozycją do zachorowania na nieswoiste zapalenie jelit.
5. Określenie ewentualnego związku niedoboru witaminy D u badanych dzieci z nosicielstwem analizowanych polimorfizmów genu receptora witaminy D.
6. Próba poszukiwania związku występowania polimorfizmów: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI i TaqI genu receptora witaminy D z przebiegiem klinicznym (aktywnością choroby, lokalizacją i rozległością zmian chorobowych) oraz wynikami wybranych badań laboratoryjnych w grupie dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit.
7. Dodatkowym celem było rozważenie wskazań do suplementacji witaminy D w badanej grupie dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit oraz w grupie kontrolnej.

Material i metody: Badaniem objęto 109 dzieci w wieku od 3,16 do 17,9 lat hospitalizowanych w Klinice Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed oraz Pediatrycznym Szpitalnym Oddziale Ratunkowym COPERNICUS Sp.z.o.o. W grupie chorych z NZJ były 62 osoby, w tym 34 pacjentów chorujących na ChLC i 28 z WZJG. Grupę kontrolną (porównawczą) stanowiło 47 dzieci.

Kryterium zakwalifikowania do grupy badanej było rozpoznanie NZJ, które ustalono na podstawie: obrazu klinicznego, badania endoskopowego – dolnego odcinka przewodu pokarmowego, a u części badanych także górnego odcinka przewodu pokarmowego (podejrzenie ChLC), oceny histopatologicznej bioptatów błony śluzowej jelita grubego oraz wyników badań dodatkowych.

Stężenie witaminy D we krwi oznaczano przy użyciu metody immunochemiluminescencji z wykorzystaniem analizatora Liaison XL firmy DiaSorin (metoda CLIA). Badanie wykonywano w osoczu uzyskanym z krwi pobranej do probówki z EDTA. Do oznaczenia polimorfizmów Cdx2, TaqI, ApaI, BsmI oraz FokI w genie *VDR* zastosowano metodę minisekwencjonowania opisaną przez Lins i wsp.

Wyniki: Średnie stężenie witaminy D w grupie badawczej wynosiło 19,87 ng/ml (20,21 ng/ml u chorych z ChLC, 19,45 ng/ml z WZJG) i było znamienne wyższe niż w grupie porównawczej (16,07 ng/ml). U zdecydowanej większości analizowanych, zarówno w grupie badawczej (59,7%) jak i porównawczej (80,85%) stwierdzono niedobór witaminy D; stężenie suboptymalne wykazano u 27,4% chorych z NZJ i u 15% dzieci z grupy porównawczej, natomiast prawidłowe stężenie witaminy D odpowiednio u 9,7% i 4,25% dzieci.

Wykazano istotnie wyższe średnie stężenie witaminy 25(OH)D w całej grupie dzieci (NZJ, K) stosujących jej suplementację (21,89 ng/ml) w stosunku do grupy dzieci, które nie stosowały suplementacji (16,03 ng/ml).

Analizując związek typu stosowanej terapii i stężenia witaminy D w grupie dzieci z NZJ wykazano istotnie niższe stężenie witaminy D u chorych przyjmujących jedynie GKS w stosunku do pacjentów otrzymujących jednocześnie GKS i preparaty witaminy D, ponadto wykazano istotnie wyższe stężenie witaminy D w grupie dzieci z ChLC, które w momencie włączenia do badania otrzymywały leki biologiczne (26,57 ng/ml).

Rozpatrując stężenie witaminy D w zależności od lokalizacji endoskopowej zmian chorobowych wykazano w grupie chorych z ChLC istotnie wyższe jej stężenie w grupie z lokalizacją L3 (26,22 ng/ml) w porównaniu do grupy dzieci z lokalizacją L2 (19,24 ng/ml) i grupą porównawczą (16,07 ng/ml).

Wykazano ponadto istotnie najwyższe stężenie witaminy D (28,24 ng/ml) w grupie osób eksponowanej na słońce codziennie w każdej porze roku w stosunku do pozostałych grup, najniższe stężenie (15,5 ng/ml) wykazano w grupie eksponowanej na słońce najrzadziej.

W wyniku analizy polimorfizmów genu *VDR* nie zaobserwowano statystycznie istotnej różnicy częstości występowania poszczególnych genotypów między badanymi grupami (NZJ, K) i podgrupami (ChLC, WZJG, K) w zakresie wszystkich

analizowanych polimorfizmów (Cdx2, FokI, BsmI, ApaI, TaqI), jednakże wykazano istotnie statystyczną zwiększoną szansę zachorowania na NZJ dla genotypu GA polimorfizmu Cdx2 (2,3x krotnie) oraz genotypu GA polimorfizmu BsmI (2,07x krotnie).

W niniejszej pracy wykazano związek między stopniem aktywności choroby u pacjentów z WZJG z występowaniem polimorfizmu FokI ($p=0,027$); nie wykazano związku pomiędzy stopniem aktywności choroby a pozostałymi polimorfizmami genu *VDR*. Ponadto wykazano związek między lokalizacją choroby w paryskiej klasyfikacji endoskopowej u pacjentów z WZJG a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D ($p=0,046$); nie wykazano związku pomiędzy lokalizacją choroby a pozostałymi polimorfizmami genu *VDR*.

Analizując związek badanych polimorfizmów genu *VDR* z wybranymi wynikami badań laboratoryjnych u pacjentów z NZJ wykazano statystycznie istotną zależność w zakresie wyższego stężenia witaminy D u pacjentów z NZJ oraz ChLC z homozygotą recesywną (genotyp TT) polimorfizmu TaqI w stosunku do homozygoty dominującej oraz z homozygotą recesywną (genotyp GG) polimorfizmu BsmI w stosunku do homozygoty dominującej.

Wnioski:

1. Zarówno w populacji dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit jak i w grupie porównawczej obserwowano niedobór witaminy D, dotyczył on w większym stopniu dzieci z grupy porównawczej. Sugeruje to konieczność suplementacji witaminy D w grupie dzieci chorujących na nieswoiste zapalenia jelit oraz u ich zdrowych rówieśników, zwłaszcza u nastolatków.
2. Wykazano, że codzienna ekspozycja na promieniowanie słoneczne, wpływa korzystnie na stężenia witaminy D we krwi badanych dzieci. W związku z tym, wskazane jest promowanie przebywania dzieci na świeżym powietrzu.
3. Wydaje się, że stan odżywienia, styl życia badanych (dieta, aktywność fizyczna) nie modyfikują poziomu witaminy D we krwi. Obserwacje powyższe wymagają jednak weryfikacji w większych grupach badanych.
4. W związku z tym, że u badanych pacjentów z ChLC, mimo stwierdzenia rozległych zmian chorobowych w badaniu endoskopowym przewodu pokarmowego, wykazano wyższe stężenie witaminy D we krwi w porównaniu do grupy ze zmianami chorobowymi ograniczonymi

do okrężnicy, można wnioskować o mniej nasilonych zaburzeniach wchłaniania w przebiegu tego schorzenia niż dotychczas sądzono.

5. W związku z tym, że nie obserwowano różnicy w częstości występowania badanych polimorfizmów genu receptora witaminy D w grupie dzieci chorych i w grupie porównawczej, wydaje się, że analiza częstości ich występowania nie pozwala na szacowanie zapadalności na nieswoiste zapalenia jelit.
6. Ze względu na to, że występowanie genotypów heterozygotycznych dla polimorfizmów Cdx2 oraz BsmI genu receptora witaminy D zwiększa ryzyko zachorowania na nieswoiste zapalenia jelit, należy rozważyć poszukiwanie tych polimorfizmów w przypadku trudności diagnostycznych u pacjentów z objawami sugerującymi NZJ.
7. Wykazany związek obecności homozygoty recesywnej dla polimorfizmów TaqI oraz BsmI genu receptora witaminy D z wyższym stężeniem witaminy D we krwi pacjentów z NZJ być może wyjaśnia zróżnicowane poziomy tej witaminy w grupie dzieci chorych na nieswoiste zapalenie jelit. Obserwacje powyższe nie pozwalają jednak na wysunięcie jednoznacznych wniosków i wymagają badań w większej grupie pacjentów
8. Dla analizowanej populacji dzieci z WZJG wykazano wprawdzie związek między lokalizacją choroby w klasyfikacji paryskiej a występowaniem polimorfizmu Cdx2 genu receptora witaminy D oraz stopniem aktywności choroby i obecnością polimorfizmu FokI, jednak powyższe obserwacje wymagają szerokich badań w celu jednoznacznego potwierdzenia wpływu ich obecności na przebieg nieswoistych zapaleń jelit.
9. Wydaje się, że na tym etapie analizy wariantów genetycznych receptora witaminy D trudno formułować wiążące wnioski na temat wpływu ich obecności na wyniki parametrów laboratoryjnych.

Słowa kluczowe: dzieci, nieswoiste zapalenie jelit, witamina D, polimorfizmy genu receptora witaminy D

9. Summary

Introduction: Reports of recent years suggest that vitamin D deficiency in the population is fairly common, both in children and adults. Two main causes of vitamin D deficiency is its reduced skin synthesis and insufficient supply in everyday diet.

Children with IBD are at special risk of vitamin D deficiency as in the disease process comes to malabsorption, protein-losing enteropathy secondary to inflammation in the intestine, also in this group of patients sun exposure is reduced and intake of vitamin D in diet is decreased. We should especially pay attention to the problem of hypovitaminosis D in children with early-onset or severe course of the disease, with low levels of albumin, a lower BMI and with abnormalities in the densitometry study. An additional important risk factor is occupation of the upper gastrointestinal tract in the course of the disease.

Data from the literature emphasizing the participation of vitamin D in different areas of regulation of the immune response system, suggest the consideration of its commitment not only as a vitamin involved in the homeostasis of calcium and phosphate balance, but also as an auto- and paracrine mediator with the active participation in the pathogenesis of many diseases, including inflammatory bowel disease. In view of the fact that the majority of studies examining the status of the calcium-phosphate balance in IBD are ambiguous in recent years, the discussion focuses on the possible role of vitamin D as a risk factor of occurrence and evolution of inflammation in the intestine.

One of the genes - candidates mentioned in the study of the pathogenesis of IBD is a vitamin D receptor gene. The most common polymorphisms of *VDR* gene include ApaI , TaqI , BsmI , FokI and Cdx2 .

Research hypothesis: In children suffering from IBD vitamin D level in blood is decreased and abnormalities in the calcium - phosphate balance occur. There is a relationship between the presence of individual polymorphisms of *VDR* gene and the course of inflammatory bowel disease in children.

The aim of this study was to:

1. Evaluate the extent of vitamin D deficiency in the population of children with inflammatory bowel disease in comparison with control group.
2. Search for factors that may affect the blood levels of vitamin D in the group of children with inflammatory bowel disease and in the control group.
3. Evaluate the prevalence of polymorphisms of *VDR* gene in the group of children with inflammatory bowel disease and in the control group.
4. Search for a possible relation of polymorphisms of *VDR* gene: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI and TaqI with susceptibility to inflammatory bowel disease.
5. Determine the possible relationship of vitamin D deficiency in the children with the carrier state of the analyzed polymorphisms of the vitamin D receptor gene.
6. Attempt to search for relation of prevalence of polymorphisms of *VDR* gene: Cdx2, FokI, ApaI, BsmI and TaqI with the clinical course of disease activity, location and extent of lesions and the results of some laboratory tests in children with inflammatory bowel disease.
7. Additionally examine the indications for supplementation of vitamin D in the group of children with inflammatory bowel disease and in the control group.

Material and Methods: The study included 109 children aged from 3.16 years to 17.91 years, hospitalized in the Department of Pediatrics, Gastroenterology, Hepatology and Nutrition of Children MUG and Pediatric Emergency Department COPERNICUS. The group of patients with IBD consisted of 62 people, including 34 people suffering from Crohn's disease and 28 from ulcerative colitis. The control group (comparative) consisted of 47 people.

Diagnosis of IBD was the criterion to qualify for the study group; it was based on: the clinical course, endoscopy of the lower gastrointestinal tract and, if Crohn's disease was suspected, of the upper gastrointestinal tract, histopathological evaluation of colonic mucosa biopsies and results in additional blood studies.

Vitamin D concentration was determined with the method of immunochemiluminescence using XL analyzer Liaison DiaSorin (CLIA method). Assay was performed in plasma obtained from blood collected in EDTA tubes. For the determination of polymorphisms of *VDR* gene: Cdx2, TaqI, ApaI, BsmI and FokI mini-sequencing method described by Lins et al was used.

Results: The mean concentration of vitamin D in the research group was 19.87 ng/ml (20.21 ng/ml in patients with CD, 19.45 ng/ml in UC) and was significantly higher than in the control group (16.07 ng/ml). In the vast majority of the analyzed patients both in the research group (59.7%) and comparative group (80.85%) vitamin D deficiency occurred; suboptimal concentration was found in 27.4% of patients with IBD and 15% of children in the comparison group, while normal levels of vitamin D, respectively, in 9.7% and 4.25 % of the children.

In the entire group of children (IBD, K) significantly higher average concentration of vitamin 25(OH)D was found in the group supplemented with vitamin D (21.89 ng/ml) compared to a group of children who did not use supplements (16.03 ng/ml).

Analyzing the relationship between type of therapy and the levels of vitamin D, children taking only steroids had significantly lower levels of vitamin D in relation to children receiving concomitant glucocorticosteroids and vitamin D supplements. Also children with CD who were receiving biologic drugs (26.57 ng/ml) had significantly higher levels of vitamin D.

Considering the level of vitamin D based on the location of endoscopic lesions it has been demonstrated that patients with CD with location L3 (26.22 ng/ml) had significantly higher concentrations of vitamin D when compared to children with location of L2 (19.24 ng/ml) and the control group (16.07 ng/ml).

Additionally, significantly highest concentration of vitamin D (28.24 ng/ml) in patients exposed to the sun every day at any time of the year has been demonstrated, the lowest concentration (15.5 ng/ml) was shown in the group exposed to the sun the least likely.

During the analysis of polymorphisms of *VDR* gene, there was no statistically significant difference in the incidence of individual genotypes between the groups (IBD, K) and subgroups (CD, UC, K) of patients in all studied polymorphisms (Cdx2, FokI, BsmI, ApaI, TaqI), however, it was demonstrated a statistically significant increase in the chance of developing IBD with GA genotype for the polymorphism Cdx2 (2.3x fold) and with the genotype GA of BsmI polymorphism (2,07x times).

In the present study the relationship between the degree of disease activity in patients with UC and presence of polymorphisms FokI ($p = 0.027$) was demonstrated; there was no relationship between the degree of disease activity and other *VDR* gene

polymorphisms. Also the relationship between the location of the disease in Paris endoscopic classification of patients with UC and the presence of Cdx2 gene polymorphism of the vitamin D receptor ($p = 0.046$) was indicated; there was no relationship between the location of the disease and other *VDR* gene polymorphisms. Analysing the relationship between the polymorphisms of *VDR* gene and selected laboratory findings in patients with IBD, statistically significant correlation for higher vitamin D concentrations in patients with IBD and CD with the homozygous recessive trait (TT genotype) of TaqI polymorphism and with homozygous recessive one (GG genotype) of BsmI polymorphism was found compared to homozygous dominant.

Conclusions:

1. Both in children with inflammatory bowel disease as well as in the control group vitamin D deficiency was observed, it concerned more children from the comparison group. This suggests the need for vitamin D supplementation in a group of children with inflammatory bowel disease and in their healthy peers, especially in teenagers.
2. It has been shown that daily exposure to sunlight has a beneficial effect on the concentration of vitamin D in the blood of the children. Therefore, it is desirable to promote spending time outdoors.
3. It seems that the nutritional status, type of lifestyle (diet, physical activity) does not modify the level of vitamin D in the blood. The observations above, however, require verification in larger groups of patients.
4. Patients with CD, despite having extensive lesions in the endoscopic examination of the gastrointestinal tract, showed higher levels of vitamin D in the blood as compared to the group of patients with lesions confined to the colon. It can be concluded that disturbances of absorption in the course of the disease are less severe than previously thought.
5. In view of the fact that there was no difference in the incidence of polymorphisms of *VDR* gene between the studied and comparative groups, it appears that the analysis of the frequency of occurrence does not allow to estimate the morbidity of the inflammatory bowel disease.
6. Due to the fact that the presence of heterozygous genotype for Cdx2 and BsmI of *VDR* gene polymorphism increases the risk of inflammatory bowel disease, one

should consider searching for the polymorphisms mentioned above in the case of difficulty in the diagnosis of patients with symptoms suggestive of IBD.

7. Recognized association between homozygous recessive trait for TaqI and BsmI polymorphisms of vitamin D receptor gene and higher levels of vitamin D in patients with IBD may explain different levels of this vitamin in the studied group of children. These observations do not allow to withdraw unequivocal conclusions and require further research in larger groups of patients.
8. For the population of children with UC it has been demonstrated the relationship between the location of the disease and the occurrence of Cdx2 polymorphism of *VDR* gene and the degree of disease activity and the presence of FokI polymorphism, but these observations require extensive research in order to unambiguously confirm the effect of their presence on the course of inflammatory bowel disease.
9. It seems that at this stage of the analysis of genetic variants of the vitamin D receptor it is hard to make firm conclusions about the impact of their presence on the results of laboratory parameters .

Keywords: children, inflammatory bowel disease, vitamin D, the vitamin D receptor gene polymorphisms

10. Piśmiennictwo

- [1] P. Pludowski, M. F. Holick, S. Pilz, C. L. Wagner, B. W. Hollis, W. B. Grant, Y. Shoenfeld, E. Lerchbaum, D. J. Llewellyn, K. Kienreich, and M. Soni. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-a review of recent evidence. *Autoimmun. Rev.*, vol. 12, no. 10, pp. 976–989, Aug. 2013.
- [2] G. Jones, S. A. Strugnell, and H. F. DeLuca. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol. Rev.*, vol. 78, no. 4, pp. 1193–1231, Oct. 1998.
- [3] P. Płudowski, E. Karczmarewicz, M. Bayer, G. Carter, D. Chlebna-Sokół, J. Czech-Kowalska, R. Dębski, T. Decsi, A. Dobrzańska, E. Franek, P. Głuszko, W. B. Grant, M. F. Holick, L. Yankovskaya, J. Konstantynowicz, J. B. Książyk, K. Książopolska-Orłowska, A. Lewiński, M. Litwin, S. Lohner, R. S. Lorenc, J. Łukaszkiwicz, E. Marciniowska-Suchowierska, A. Milewicz, W. Misiorowski, M. Nowicki, V. Povoroznyuk, P. Rozentryt, E. Rudenka, Y. Shoenfeld, P. Socha, B. Solnica, M. Szalecki, M. Tałała, S. Varbiro, and M. A. Żmijewski. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol. Pol.*, vol. 64, no. 4, pp. 319–327, 2013.
- [4] M. F. Holick. McCollum Award Lecture, 1994: Vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 60, no. 4, pp. 619–630, Oct. 1994.
- [5] Jędrzej Sniadecki (1768–1838) on the Cure of Rickets : Abstract : Nature. [Online]. Available: <http://www.nature.com/nature/journal/v143/n3612/abs/143121a0.html>. [Accessed: 02-Apr-2016].
- [6] S. E. Mellanby. The part played by an accessory factor in the production of experimental rickets. *Class. Artic. Collect.*, Jan. 1918.
- [7] E. V. McCollum, N. Simmonds, J. E. Becker, and P. G. Shipley. Studies on Experimental Rickets Xxi. an Experimental Demonstration of the Existence of a Vitamin Which Promotes Calcium Deposition. *J. Biol. Chem.*, vol. 53, no. 2, pp. 293–312, Aug. 1922.
- [8] A. Windaus, A. Lüttringhaus, M. Deppe. Über das krystallisierte vitamin D1. *Liebigs Ann Chem*, no. 489, p. 252, 1931.
- [9] A. Windaus and W. Thiele. Über die Konstitution des Vitamins D2. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, vol. 521, no. 1, pp. 160–175, Jan. 1936.
- [10] Windaus A., Lettre H. Schenck F. Über das 7-Dehydrocholesterin. *Ann Chem*, vol. 520, pp. 98–106., 1935.
- [11] J. Wicha. Droga pod słońce. Wczesna historia witaminy D. *Wiadomosci Chem.*, vol. 66, pp. 672–696, 2012.
- [12] J. W. Blunt, H. F. DeLuca, and H. K. Schnoes. 25-hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D3. *Biochemistry (Mosc.)*, vol. 7, no. 10, pp. 3317–3322, Oct. 1968.
- [13] E. Karczmarewicz, J. Łukaszkiwicz, R. Lorenc. Vitamin D - metabolism, action, requirements and treatment strategies. *Stand. Med.*, vol. 4, pp. 137–142, 2007.
- [14] W. B. Grant and M. F. Holick. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern. Med. Rev. J. Clin. Ther.*, vol. 10, no. 2, pp. 94–111, Jun. 2005.

- [15] A. R. Webb, B. R. DeCosta, and M. F. Holick. Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D₃ by causing its photodegradation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 68, no. 5, pp. 882–887, May 1989.
- [16] L. Y. Matsuoka, J. Wortsman, J. G. Haddad, P. Kolm, and B. W. Hollis. Racial pigmentation and the cutaneous synthesis of vitamin D. *Arch. Dermatol.*, vol. 127, no. 4, pp. 536–538, Apr. 1991.
- [17] L. Y. Matsuoka, J. Wortsman, and B. W. Hollis. Suntanning and cutaneous synthesis of vitamin D₃. *J. Lab. Clin. Med.*, vol. 116, no. 1, pp. 87–90, Jul. 1990.
- [18] L. Y. Matsuoka, J. Wortsman, M. J. Dannenberg, B. W. Hollis, Z. Lu, and M. F. Holick. Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D₃. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 75, no. 4, pp. 1099–1103, Oct. 1992.
- [19] L. Y. Matsuoka, J. Wortsman, and B. W. Hollis. Use of topical sunscreen for the evaluation of regional synthesis of vitamin D₃. *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 22, no. 5 Pt 1, pp. 772–775, May 1990.
- [20] L. Y. Matsuoka, L. Ide, J. Wortsman, J. A. MacLaughlin, and M. F. Holick. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D₃ synthesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 64, no. 6, pp. 1165–1168, Jun. 1987.
- [21] T. L. Clemens, J. S. Adams, S. L. Henderson, and M. F. Holick. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D₃. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 1, no. 8263, pp. 74–76, Jan. 1982.
- [22] M. F. Holick. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 80, no. 6 Suppl, p. 1678S–88S, Dec. 2004.
- [23] P. Pludowski. Nowe spojrzenie na suplementację witaminą D. *Stand. Med. – Pediatr.*, pp. 23–41, 2009.
- [24] B. K. Armstrong and A. Kricger. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J. Photochem. Photobiol. B*, vol. 63, no. 1–3, pp. 8–18, Oct. 2001.
- [25] S. Gandini, F. Sera, M. S. Cattaruzza, P. Pasquini, O. Picconi, P. Boyle, and C. F. Melchi. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990, vol. 41, no. 1, pp. 45–60, Jan. 2005.
- [26] C. L. Wagner, F. R. Greer, American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding, and American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics*, vol. 122, no. 5, pp. 1142–1152, Nov. 2008.
- [27] P. Chandra, L. L. Wolfenden, T. R. Ziegler, J. Tian, M. Luo, A. A. Stecenko, T. C. Chen, M. F. Holick, and V. Tangpricha. Treatment of vitamin D deficiency with UV light in patients with malabsorption syndromes: a case series. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, vol. 23, no. 5, pp. 179–185, Oct. 2007.
- [28] C. Moore, M. M. Murphy, D. R. Keast, and M. F. Holick. Vitamin D intake in the United States. *J. Am. Diet. Assoc.*, vol. 104, no. 6, pp. 980–983, Jun. 2004.
- [29] V. Tangpricha, P. Koutkia, S. M. Rieke, T. C. Chen, A. A. Perez, and M. F. Holick. Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 77, no. 6, pp. 1478–1483, Jun. 2003.

- [30] H. L. Newmark, R. P. Heaney, and P. A. Lachance. Should calcium and vitamin D be added to the current enrichment program for cereal-grain products?. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 80, no. 2, pp. 264–270, Aug. 2004.
- [31] M. F. Holick. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 79, no. 3, pp. 362–371, Mar. 2004.
- [32] J. Ryzko. Gospodarka wapniowo-fosforanowa w stanach fizjologii i patologii układu pokarmowego. *Pediatr. Współczesna Gastroenterol. Hepatol. Żyw. Dziecka*, vol. 3, no. 2, pp. 111–117, 2001.
- [33] D. E. Prosser and G. Jones. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem. Sci.*, vol. 29, no. 12, pp. 664–673, Dec. 2004.
- [34] W. E. Stumpf, M. Sar, F. A. Reid, Y. Tanaka, and H. F. DeLuca. Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science*, vol. 206, no. 4423, pp. 1188–1190, Dec. 1979.
- [35] W. E. Stumpf, M. Sar, H.F DeLuca. Sites of action of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ identified by thaw-mount autoradiography. *Horm. Control Calcium Metab.*, pp. 222–229, 1981.
- [36] H. Tanaka, E. Abe, C. Miyaura, T. Kuribayashi, K. Konno, Y. Nishii, and T. Suda. 1 alpha,25-Dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukaemia cell line (HL-60). *Biochem. J.*, vol. 204, no. 3, pp. 713–719, Jun. 1982.
- [37] E. L. Smith, N. C. Walworth, and M. F. Holick. Effect of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ on the morphologic and biochemical differentiation of cultured human epidermal keratinocytes grown in serum-free conditions. *J. Invest. Dermatol.*, vol. 86, no. 6, pp. 709–714, Jun. 1986.
- [38] Holick MF. Clinical efficacy of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogues in the treatment of psoriasis. *Retinoids*, vol. 14, pp. 12–7, 1998.
- [39] G. G. Schwartz, L. W. Whitlatch, T. C. Chen, B. L. Lokeshwar, and M. F. Holick. Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from 25-hydroxyvitamin D₃. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.*, vol. 7, no. 5, pp. 391–395, May 1998.
- [40] V. Tangpricha, J. N. Flanagan, L. W. Whitlatch, C. C. Tseng, T. C. Chen, P. R. Holt, M. S. Lipkin, and M. F. Holick. 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase in normal and malignant colon tissue. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 357, no. 9269, pp. 1673–1674, May 2001.
- [41] H. S. Cross, P. Bareis, H. Hofer, M. G. Bischof, E. Bajna, S. Kriwanek, E. Bonner, and M. Peterlik. 25-Hydroxyvitamin D(3)-1alpha-hydroxylase and vitamin D receptor gene expression in human colonic mucosa is elevated during early cancerogenesis. *Steroids*, vol. 66, no. 3–5, pp. 287–292, May 2001.
- [42] E. B. Mawer, M. E. Hayes, S. E. Heys, M. Davies, A. White, M. F. Stewart, and G. N. Smith. Constitutive synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ by a human small cell lung cancer cell line. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 79, no. 2, pp. 554–560, Aug. 1994.
- [43] J. Charzewska, D. Chlebna-Sokół, A. Chybicka i wsp. Aktualne (2009) polskie zalecenia dotyczące profilaktyki niedoboru witaminy D. *Med. Prakt. - Pediatr.*, no. 01, pp. 40–46, 2010.

- [44] C. Braegger, C. Campoy, V. Colomb, T. Decsi, M. Domellof, M. Fewtrell, I. Hojsak, W. Mihatsch, C. Molgaard, R. Shamir, D. Turck, J. van Goudoever, and ESPGHAN Committee on Nutrition. Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 56, no. 6, pp. 692–701, Jun. 2013.
- [45] M. F. Holick. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes*, vol. 9, no. 1, pp. 87–98, Feb. 2002.
- [46] Karczmarewicz E., Płudowski P., Łukaszkiwicz E., Skorupa E., Lorenc RS. Witamina D - standardy diagnostyczne, kliniczna interpretacja oznaczeń. *Terapia*, vol. 209, no. 5, pp. 47–53, 2008.
- [47] G. Carter, J. Jones, E. Walker. Assays for vitamin D metabolites; performance in the real world. *Stand. Med. Pediatr.*, vol. 12, pp. 587–592, 2015.
- [48] G. D. Carter, C. R. Carter, E. Gunter, J. Jones, G. Jones, H. L. J. Makin, and S. Sufi. Measurement of Vitamin D metabolites: an international perspective on methodology and clinical interpretation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 89–90, no. 1–5, pp. 467–471, May 2004.
- [49] R. J. Singh, R. L. Taylor, G. S. Reddy, and S. K. G. Grebe. C-3 epimers can account for a significant proportion of total circulating 25-hydroxyvitamin D in infants, complicating accurate measurement and interpretation of vitamin D status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 91, no. 8, pp. 3055–3061, Aug. 2006.
- [50] The International External Quality Assessment Scheme for Vitamin D Metabolites. www.deqas.org
- [51] H. M. Pappa, R. J. Grand, and C. M. Gordon. Report on the vitamin D status of adult and pediatric patients with inflammatory bowel disease and its significance for bone health and disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 12, no. 12, pp. 1162–1174, Dec. 2006.
- [52] A. W. Norman. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 88, no. 2, p. 491S–499S, Aug. 2008.
- [53] M. Priemel, C. von Demarus, T. O. Klatte, S. Kessler, J. Schlie, S. Meier, N. Proksch, F. Pastor, C. Netter, T. Streichert, K. Püschel, and M. Amling. Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 25, no. 2, pp. 305–312, Feb. 2010.
- [54] J. Hilger, A. Friedel, R. Herr, T. Rausch, F. Roos, D. A. Wahl, D. D. Pierroz, P. Weber, and K. Hoffmann. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br. J. Nutr.*, vol. 111, no. 1, pp. 23–45, Jan. 2014.
- [55] P. Płudowski, J. Konstantynowicz, M. Jaworski, P. Abramowicz, C. Ducki. Ocena stanu zaopatrzenia w witaminę D w populacji osób dorosłych w Polsce. *Stand. Med. Pediatr.*, vol. 11, no. 4, pp. 609–617, 2014.
- [56] E. Karczmarewicz, E. Czekuc-Kryskiewicz, and P. Płudowski. Effect of vitamin D status on pharmacological treatment efficiency: Impact on cost-effective management in medicine. *Dermatoendocrinol.*, vol. 5, no. 2, pp. 299–304, Apr. 2013.
- [57] A. R. Webb, L. Kline, and M. F. Holick. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not

- promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 67, no. 2, pp. 373–378, Aug. 1988.
- [58] J. MacLaughlin and M. F. Holick. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. *J. Clin. Invest.*, vol. 76, no. 4, pp. 1536–1538, Oct. 1985.
- [59] K. S. Agarwal, M. Z. Mughal, P. Upadhyay, J. L. Berry, E. B. Mawer, and J. M. Puliyeel. The impact of atmospheric pollution on vitamin D status of infants and toddlers in Delhi, India. *Arch. Dis. Child.*, vol. 87, no. 2, pp. 111–113, Aug. 2002.
- [60] L. M. Ward, I. Gaboury, M. Ladhani, and S. Zlotkin. Vitamin D-deficiency rickets among children in Canada. *CMAJ Can. Med. Assoc. J. J. Assoc. Medicale Can.*, vol. 177, no. 2, pp. 161–166, Jul. 2007.
- [61] W. Högler, U. Baumann, and D. Kelly. Endocrine and bone metabolic complications in chronic liver disease and after liver transplantation in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 54, no. 3, pp. 313–321, Mar. 2012.
- [62] L. M. Gartner, F. R. Greer, and Section on Breastfeeding and Committee on Nutrition. American Academy of Pediatrics. Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. *Pediatrics*, vol. 111, no. 4 Pt 1, pp. 908–910, Apr. 2003.
- [63] S. R. Kreiter, R. P. Schwartz, H. N. Kirkman, P. A. Charlton, A. S. Calikoglu, and M. L. Davenport. Nutritional rickets in African American breast-fed infants. *J. Pediatr.*, vol. 137, no. 2, pp. 153–157, Aug. 2000.
- [64] A. T. Fox, G. Du Toit, A. Lang, and G. Lack. Food allergy as a risk factor for nutritional rickets. *Pediatr. Allergy Immunol. Off. Publ. Eur. Soc. Pediatr. Allergy Immunol.*, vol. 15, no. 6, pp. 566–569, Dec. 2004.
- [65] M. Pazianas, G. P. Butcher, J. M. Subhani, P. J. Finch, L. Ang, C. Collins, R. P. Heaney, M. Zaidi, and J. D. Maxwell. Calcium absorption and bone mineral density in celiacs after long term treatment with gluten-free diet and adequate calcium intake. *Osteoporos. Int. J. Establ. Result Coop. Eur. Found. Osteoporos. Natl. Osteoporos. Found. USA*, vol. 16, no. 1, pp. 56–63, Jan. 2005.
- [66] A. J. Rovner, V. A. Stallings, J. I. Schall, M. B. Leonard, and B. S. Zemel. Vitamin D insufficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 86, no. 6, pp. 1694–1699, Dec. 2007.
- [67] A. S. Challa, S. E. Makariou, and E. C. Siomou. The relation of vitamin D status with metabolic syndrome in childhood and adolescence: an update. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM*, vol. 28, no. 11–12, pp. 1235–1245, Nov. 2015.
- [68] J.-H. Baek, Y.-H. Seo, G.-H. Kim, M.-K. Kim, and B.-L. Eun. Vitamin D levels in children and adolescents with antiepileptic drug treatment. *Yonsei Med. J.*, vol. 55, no. 2, pp. 417–421, Mar. 2014.
- [69] L. Facchini, E. Venturini, L. Galli, M. de Martino, and E. Chiappini. Vitamin D and tuberculosis: a review on a hot topic. *J. Chemother. Florence Italy*, vol. 27, no. 3, pp. 128–138, Jun. 2015.
- [70] M. Cebey-López, J. Pardo-Seco, A. Gómez-Carballa, N. Martínón-Torres, I. Rivero-Calle, A. Justicia, L. Redondo, J. M. Martínón-Sánchez, M. D. C. Martínez-Padilla, F. Giménez-Sánchez, A. Salas, F. Martínón-Torres, and GENDRES Network. Role of

Vitamin D in Hospitalized Children With Lower Tract Acute Respiratory Infections. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 62, no. 3, pp. 479–485, Mar. 2016.

- [71] A. R. Eckard, T. Leong, A. Avery, M. D. Castillo, H. Bonilla, N. Storer, D. Labbato, A. Khaitan, V. Tangpricha, and G. A. McComsey. Short communication: High prevalence of vitamin D deficiency in HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, vol. 29, no. 9, pp. 1224–1228, Sep. 2013.
- [72] R. Revuelta Iniesta, R. Rush, I. Paciarotti, E. B. Rhatigan, F. H. M. Brougham, J. M. McKenzie, and D. C. Wilson. Systematic review and meta-analysis: Prevalence and possible causes of vitamin D deficiency and insufficiency in pediatric cancer patients. *Clin. Nutr. Edinb. Scotl.*, vol. 35, no. 1, pp. 95–108, Feb. 2016.
- [73] Y.-M. Shen, J.-F. Wu, H.-Y. Hsu, Y.-H. Ni, M.-H. Chang, Y.-W. Liu, H.-S. Lai, W.-M. Hsu, H.-L. Weng, and H.-L. Chen. Oral absorbable fat-soluble vitamin formulation in pediatric patients with cholestasis. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 55, no. 5, pp. 587–591, Nov. 2012.
- [74] S. Christakos, P. Dhawan, Y. Liu, X. Peng, and A. Porta. New insights into the mechanisms of vitamin D action. *J. Cell. Biochem.*, vol. 88, no. 4, pp. 695–705, Mar. 2003.
- [75] “OMIM,” <https://omim.org/entry/601769>.
- [76] A. R. Baker, D. P. McDonnell, M. Hughes, T. M. Crisp, D. J. Mangelsdorf, M. R. Haussler, J. W. Pike, J. Shine, and B. W. O’Malley. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 85, no. 10, pp. 3294–3298, May 1988.
- [77] M. R. Haussler, C. A. Haussler, P. W. Jurutka, P. D. Thompson, J. C. Hsieh, L. S. Remus, S. H. Selznick, and G. K. Whitfield. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J. Endocrinol.*, vol. 154 Suppl, pp. S57–73, Sep. 1997.
- [78] A. Chawla, J. J. Repa, R. M. Evans, and D. J. Mangelsdorf. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science*, vol. 294, no. 5548, pp. 1866–1870, Nov. 2001.
- [79] A. Aranda and A. Pascual. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol. Rev.*, vol. 81, no. 3, pp. 1269–1304, Jul. 2001.
- [80] N. Rochel, J. M. Wurtz, A. Mitschler, B. Klaholz, and D. Moras. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol. Cell*, vol. 5, no. 1, pp. 173–179, Jan. 2000.
- [81] S. Nagpal, J. Lu, and M. F. Boehm. Vitamin D analogs: mechanism of action and therapeutic applications. *Curr. Med. Chem.*, vol. 8, no. 13, pp. 1661–1679, Nov. 2001.
- [82] M. Makishima, T. T. Lu, W. Xie, G. K. Whitfield, H. Domoto, R. M. Evans, M. R. Haussler, and D. J. Mangelsdorf. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor. *Science*, vol. 296, no. 5571, pp. 1313–1316, May 2002.
- [83] P. Schmiedlin-Ren, K. E. Thummel, J. M. Fisher, M. F. Paine, K. S. Lown, and P. B. Watkins. Expression of enzymatically active CYP3A4 by Caco-2 cells grown on extracellular matrix-coated permeable supports in the presence of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Mol. Pharmacol.*, vol. 51, no. 5, pp. 741–754, May 1997.

- [84] K. F. Kane, M. J. Langman, and G. R. Williams. Antiproliferative responses to two human colon cancer cell lines to vitamin D3 are differently modified by 9-cis-retinoic acid. *Cancer Res.*, vol. 56, no. 3, pp. 623–632, Feb. 1996.
- [85] R. Bouillon, G. Carmeliet, L. Verlinden, E. van Etten, A. Verstuyf, H. F. Luderer, L. Lieben, C. Mathieu, and M. Demay. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr. Rev.*, vol. 29, no. 6, pp. 726–776, Oct. 2008.
- [86] G. K. Whitfield, L. S. Remus, P. W. Jurutka, H. Zitzer, A. K. Oza, H. T. Dang, C. A. Haussler, M. A. Galligan, M. L. Thatcher, C. Encinas Dominguez, and M. R. Haussler. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol. Cell. Endocrinol.*, vol. 177, no. 1–2, pp. 145–159, May 2001.
- [87] K. Miyamoto, R. A. Kesterson, H. Yamamoto, Y. Taketani, E. Nishiwaki, S. Tatsumi, Y. Inoue, K. Morita, E. Takeda, and J. W. Pike. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md.*, vol. 11, no. 8, pp. 1165–1179, Jul. 1997.
- [88] H. Yamamoto, K. Miyamoto, B. Li, Y. Taketani, M. Kitano, Y. Inoue, K. Morita, J. W. Pike, and E. Takeda. The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 14, no. 2, pp. 240–247, Feb. 1999.
- [89] A. G. Uitterlinden, S. H. Ralston, M. L. Brandi, A. H. Carey, D. Grinberg, B. L. Langdahl, P. Lips, R. Lorenc, B. Obermayer-Pietsch, J. Reeve, D. M. Reid, A. Amedei, A. Amidei, A. Bassiti, M. Bustamante, L. B. Husted, A. Diez-Perez, H. Dobnig, A. M. Dunning, A. Enjuanes, A. Fahrleitner-Pammer, Y. Fang, E. Karczmarewicz, M. Kruk, J. P. T. M. van Leeuwen, C. Mavilia, J. B. J. van Meurs, J. Mangion, F. E. A. McGuigan, H. A. P. Pols, W. Renner, F. Rivadeneira, N. M. van Schoor, S. Scollen, R. E. Sherlock, J. P. A. Ioannidis, APOSS Investigators, EPOS Investigators, EPOLOS Investigators, FAMOS Investigators, LASA Investigators, Rotterdam Study Investigators, and GENOMOS Study, “The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis,” *Ann. Intern. Med.*, vol. 145, no. 4, pp. 255–264, Aug. 2006.
- [90] L. Gennari, L. Becherini, L. Masi, R. Mansani, S. Gonnelli, C. Cepollaro, S. Martini, A. Montagnani, G. Lentini, A. M. Becorpi, and M. L. Brandi, “Vitamin D and estrogen receptor allelic variants in Italian postmenopausal women: evidence of multiple gene contribution to bone mineral density,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 83, no. 3, pp. 939–944, Mar. 1998.
- [91] B. S. Park, J. S. Park, D. Y. Lee, J. I. Youn, and I. G. Kim, “Vitamin D receptor polymorphism is associated with psoriasis,” *J. Invest. Dermatol.*, vol. 112, no. 1, pp. 113–116, Jan. 1999.
- [92] Y. Ban, M. Taniyama, and Y. Ban, “Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with Graves’ disease in the Japanese population,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 85, no. 12, pp. 4639–4643, Dec. 2000.
- [93] Y. Motohashi, S. Yamada, T. Yanagawa, T. Maruyama, R. Suzuki, M. Niino, T. Fukazawa, A. Kasuga, H. Hirose, K. Matsubara, A. Shimada, and T. Saruta, “Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 88, no. 7, pp. 3137–3140, Jul. 2003.
- [94] P. Selvaraj, S. M. Kurian, G. Chandra, A. M. Reetha, N. Charles, and P. R. Narayanan, “Vitamin D receptor gene variants of BsmI, ApaI, TaqI, and FokI polymorphisms in spinal tuberculosis,” *Clin. Genet.*, vol. 65, no. 1, pp. 73–76, Jan. 2004.

- [95] G. P. Levin, C. Robinson-Cohen, I. H. de Boer, D. K. Houston, K. Lohman, Y. Liu, S. B. Kritchevsky, J. A. Cauley, T. Tanaka, L. Ferrucci, S. Bandinelli, K. V. Patel, E. Hagström, K. Michaëlsson, H. Melhus, T. Wang, M. Wolf, B. M. Psaty, D. Siscovick, and B. Kestenbaum. Genetic variants and associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with major clinical outcomes. *JAMA*, vol. 308, no. 18, pp. 1898–1905, Nov. 2012.
- [96] M. B. Cox, M. Ban, N. A. Bowden, A. Baker, R. J. Scott, and J. Lechner-Scott. Potential association of vitamin D receptor polymorphism Taq1 with multiple sclerosis. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.*, vol. 18, no. 1, pp. 16–22, Jan. 2012.
- [97] K. Tizaoui, A. Berraies, B. Hamdi, W. Kaabachi, K. Hamzaoui, and A. Hamzaoui. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with asthma risk: systematic review and updated meta-analysis of case-control studies. *Lung*, vol. 192, no. 6, pp. 955–965, Dec. 2014.
- [98] Myszka M., Klinger M. Immunomodulatory działanie witaminy D. *Postepy Hig Med Dosw*, vol. 68, pp. 865–878, 2014.
- [99] J. S. Adams and M. A. Gacad. Characterization of 1 alpha-hydroxylation of vitamin D3 sterols by cultured alveolar macrophages from patients with sarcoidosis. *J. Exp. Med.*, vol. 161, no. 4, pp. 755–765, Apr. 1985.
- [100] P. T. Liu, S. Stenger, H. Li, L. Wenzel, B. H. Tan, S. R. Krutzik, M. T. Ochoa, J. Schaubert, K. Wu, C. Meinken, D. L. Kamen, M. Wagner, R. Bals, A. Steinmeyer, U. Zügel, R. L. Gallo, D. Eisenberg, M. Hewison, B. W. Hollis, J. S. Adams, B. R. Bloom, and R. L. Modlin. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science*, vol. 311, no. 5768, pp. 1770–1773, Mar. 2006.
- [101] D. Vandamme, B. Landuyt, W. Luyten, and L. Schoofs. A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cell. Immunol.*, vol. 280, no. 1, pp. 22–35, Nov. 2012.
- [102] T.-T. Wang, B. Dabbas, D. Laperriere, A. J. Bitton, H. Soualhine, L. E. Tavera-Mendoza, S. Dionne, M. J. Servant, A. Bitton, E. G. Seidman, S. Mader, M. A. Behr, and J. H. White. Direct and indirect induction by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of the NOD2/CARD15-defensin beta2 innate immune pathway defective in Crohn disease. *J. Biol. Chem.*, vol. 285, no. 4, pp. 2227–2231, Jan. 2010.
- [103] J. M. Lemire and D. C. Archer. 1,25-dihydroxyvitamin D3 prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Clin. Invest.*, vol. 87, no. 3, pp. 1103–1107, Mar. 1991.
- [104] I. Alroy, T. L. Towers, and L. P. Freedman. Transcriptional repression of the interleukin-2 gene by vitamin D3: direct inhibition of NFATp/AP-1 complex formation by a nuclear hormone receptor. *Mol. Cell. Biol.*, vol. 15, no. 10, pp. 5789–5799, Oct. 1995.
- [105] M. T. Cantorna, L. Snyder, Y.-D. Lin, and L. Yang. Vitamin D and 1,25(OH)2D regulation of T cells. *Nutrients*, vol. 7, no. 4, pp. 3011–3021, Apr. 2015.
- [106] J.-H. Chang, H.-R. Cha, D.-S. Lee, K. Y. Seo, and M.-N. Kweon. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the differentiation and migration of T(H)17 cells to protect against experimental autoimmune encephalomyelitis. *PloS One*, vol. 5, no. 9, p. e12925, 2010.
- [107] Z. Urry, E. Xystrakis, D. F. Richards, J. McDonald, Z. Sattar, D. J. Cousins, C. J. Corrigan, E. Hickman, Z. Brown, and C. M. Hawrylowicz. Ligation of TLR9 induced on

human IL-10-secreting Tregs by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ abrogates regulatory function. *J. Clin. Invest.*, vol. 119, no. 2, pp. 387–398, Feb. 2009.

- [108] S. Chen, G. P. Sims, X. X. Chen, Y. Y. Gu, S. Chen, and P. E. Lipsky. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation. *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 179, no. 3, pp. 1634–1647, Aug. 2007.
- [109] J. Banchereau, F. Briere, C. Caux, J. Davoust, S. Lebecque, Y. J. Liu, B. Pulendran, and K. Palucka. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 18, pp. 767–811, 2000.
- [110] L. Adorini, G. Penna, N. Giarratana, A. Roncari, S. Amuchastegui, K. C. Daniel, and M. Uskokovic. Dendritic cells as key targets for immunomodulation by Vitamin D receptor ligands. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, vol. 89–90, no. 1–5, pp. 437–441, May 2004.
- [111] J. Abe, K. Nakamura, Y. Takita, T. Nakano, H. Irie, and Y. Nishii. Prevention of immunological disorders in MRL/l mice by a new synthetic analogue of vitamin D₃: 22-oxa-1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, vol. 36, no. 1, pp. 21–31, Feb. 1990.
- [112] C. Fournier, P. Gepner, M. Sadouk, and J. Charreire. In vivo beneficial effects of cyclosporin A and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the induction of experimental autoimmune thyroiditis. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, vol. 54, no. 1, pp. 53–63, Jan. 1990.
- [113] K. M. Casteels, C. Mathieu, M. Waer, D. Valckx, L. Overbergh, J. M. Laureys, and R. Bouillon. Prevention of type I diabetes in nonobese diabetic mice by late intervention with nonhypercalcemic analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in combination with a short induction course of cyclosporin A. *Endocrinology*, vol. 139, no. 1, pp. 95–102, Jan. 1998.
- [114] M. T. Cantorna. Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, vol. 92, no. 1, pp. 60–64, Sep. 2006.
- [115] D. D. Bikle. Vitamin D insufficiency/deficiency in gastrointestinal disorders. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 22 Suppl 2, pp. V50–54, Dec. 2007.
- [116] H. M. Pappa, C. M. Gordon, T. M. Saslowsky, A. Zholudev, B. Horr, M.-C. Shih, and R. J. Grand. Vitamin D status in children and young adults with inflammatory bowel disease. *Pediatrics*, vol. 118, no. 5, pp. 1950–1961, Nov. 2006.
- [117] I. Łazowska - Przeorek, and K. Karolewska - Bochenek. Nieswoiste choroby zapalne jelit., red. P. Albrecht, *Gastroenterologia Dziecięca*, 1st ed., Warszawa: Czelej, 2014, pp. 218–249.
- [118] J.H. Yardley, M. Donowitz. Colo-rectal biopsy in inflammatory bowel disease. *Monogr. Pathol.*, vol. 18, pp. 50-94, 1977
- [119] P. Landowski. Atypowe postaci przewlekłego nieswoistego zapalenia jelita grubego. red. M. Korzon, B. Kamińska, and A. Szarszewski, *Choroby jelita grubego u dzieci*. pp. 65-79, ed. Adam Marszałek, 2004.
- [120] Mendeloff AI and Calkins BM. The epidemiology of idiopathic inflammatory bowel disease. in *Inflammatory Bowel Disease*, Philadelphia: Lea&Febiger, 1988, p. 3.
- [121] R. D. Johnston and R. F. A. Logan. What is the peak age for onset of IBD?. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 14 Suppl 2, pp. S4–5, Oct. 2008.

- [122] M. D. Kappelman, K. R. Moore, J. K. Allen, and S. F. Cook. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. *Dig. Dis. Sci.*, vol. 58, no. 2, pp. 519–525, Feb. 2013.
- [123] H. Hildebrand, Y. Finkel, L. Grahnquist, J. Lindholm, A. Ekbom, and J. Askling. Changing pattern of paediatric inflammatory bowel disease in northern Stockholm 1990-2001. *Gut*, vol. 52, no. 10, pp. 1432–1434, Oct. 2003.
- [124] T. R. Yapp, R. Stenson, G. A. Thomas, B. W. Lawrie, G. T. Williams, and A. B. Hawthorne. Crohn's disease incidence in Cardiff from 1930: an update for 1991-1995. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 12, no. 8, pp. 907–911, Aug. 2000.
- [125] G. P. Rubin, A. P. Hungin, P. J. Kelly, and J. Ling. Inflammatory bowel disease: epidemiology and management in an English general practice population. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 14, no. 12, pp. 1553–1559, Dec. 2000.
- [126] M. D. Kappelman, S. L. Rifas-Shiman, K. Kleinman, D. Ollendorf, A. Bousvaros, R. J. Grand, and J. A. Finkelstein. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.*, vol. 5, no. 12, pp. 1424–1429, Dec. 2007.
- [127] "Rejestr choroby Crohna", www.chorobacrohna.pl.
- [128] Bartnik W. Wytuczne postępowania w nieswoistych zapalnych chorobach jelit. *Przegl Gastroenterol*, vol. 2, pp. 215–229, 2007.
- [129] J. Halfvarson, L. Bodin, C. Tysk, E. Lindberg, and G. Järnerot. Inflammatory bowel disease in a Swedish twin cohort: a long-term follow-up of concordance and clinical characteristics. *Gastroenterology*, vol. 124, no. 7, pp. 1767–1773, Jun. 2003.
- [130] M. Orholm, V. Binder, T. I. Sørensen, L. P. Rasmussen, and K. O. Kyvik. Concordance of inflammatory bowel disease among Danish twins. Results of a nationwide study. *Scand. J. Gastroenterol.*, vol. 35, no. 10, pp. 1075–1081, Oct. 2000.
- [131] N. P. Thompson, R. Driscoll, R. E. Pounder, and A. J. Wakefield. Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study. *BMJ*, vol. 312, no. 7023, pp. 95–96, Jan. 1996.
- [132] J. C. Barrett, S. Hansoul, D. L. Nicolae, J. H. Cho, R. H. Duerr, J. D. Rioux, S. R. Brant, M. S. Silverberg, K. D. Taylor, M. M. Barmada, A. Bitton, T. Dassopoulos, L. W. Datta, T. Green, A. M. Griffiths, E. O. Kistner, M. T. Murtha, M. D. Regueiro, J. I. Rotter, L. P. Schumm, A. H. Steinhart, S. R. Targan, R. J. Xavier, NIDDK IBD Genetics Consortium, C. Libioulle, C. Sandor, M. Lathrop, J. Belaiche, O. Dewit, I. Gut, S. Heath, D. Laukens, M. Mni, P. Rutgeerts, A. Van Gossum, D. Zelenika, D. Franchimont, J.-P. Hugot, M. de Vos, S. Vermeire, E. Louis, Belgian-French IBD Consortium, Wellcome Trust Case Control Consortium, L. R. Cardon, C. A. Anderson, H. Drummond, E. Nimmo, T. Ahmad, N. J. Prescott, C. M. Onnie, S. A. Fisher, J. Marchini, J. Ghorri, S. Bumpstead, R. Gwilliam, M. Tremelling, P. Deloukas, J. Mansfield, D. Jewell, J. Satsangi, C. G. Mathew, M. Parkes, M. Georges, and M. J. Daly. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat. Genet.*, vol. 40, no. 8, pp. 955–962, Aug. 2008.
- [133] J. D. Rioux, R. J. Xavier, K. D. Taylor, M. S. Silverberg, P. Goyette, A. Huett, T. Green, P. Kuballa, M. M. Barmada, L. W. Datta, Y. Y. Shugart, A. M. Griffiths, S. R. Targan, A. F. Ippoliti, E.-J. Bernard, L. Mei, D. L. Nicolae, M. Regueiro, L. P. Schumm, A. H. Steinhart, J. I. Rotter, R. H. Duerr, J. H. Cho, M. J. Daly, and S. R. Brant. Genome-wide

association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat. Genet.*, vol. 39, no. 5, pp. 596–604, May 2007.

- [134] S. Kugathasan, N. Collins, K. Maresso, R. G. Hoffmann, M. Stephens, S. L. Werlin, C. Rudolph, and U. Broeckel. CARD15 gene mutations and risk for early surgery in pediatric-onset Crohn's disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.*, vol. 2, no. 11, pp. 1003–1009, Nov. 2004.
- [135] S. Lala, Y. Ogura, C. Osborne, S. Y. Hor, A. Bromfield, S. Davies, O. Ogunbiyi, G. Nuñez, and S. Keshav. Crohn's disease and the NOD2 gene: a role for paneth cells. *Gastroenterology*, vol. 125, no. 1, pp. 47–57, Jul. 2003.
- [136] Y. Ogura, D. K. Bonen, N. Inohara, D. L. Nicolae, F. F. Chen, R. Ramos, H. Britton, T. Moran, R. Karaliuskas, R. H. Duerr, J. P. Achkar, S. R. Brant, T. M. Bayless, B. S. Kirschner, S. B. Hanauer, G. Nuñez, and J. H. Cho. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, vol. 411, no. 6837, pp. 603–606, May 2001.
- [137] W. H. Price. A high incidence of chronic inflammatory bowel disease in patients with Turner's syndrome. *J. Med. Genet.*, vol. 16, no. 4, pp. 263–266, Aug. 1979.
- [138] W. A. Gahl, M. Brantly, M. I. Kaiser-Kupfer, F. Iwata, S. Hazelwood, V. Shotelersuk, L. F. Duffy, E. M. Kuehl, J. Troendle, and I. Bernardini. Genetic defects and clinical characteristics of patients with a form of oculocutaneous albinism (Hermansky-Pudlak syndrome). *N. Engl. J. Med.*, vol. 338, no. 18, pp. 1258–1264, Apr. 1998.
- [139] G. Visser, J. P. Rake, J. Fernandes, P. Labrune, J. V. Leonard, S. Moses, K. Ullrich, and G. P. Smit. Neutropenia, neutrophil dysfunction, and inflammatory bowel disease in glycogen storage disease type Ib: results of the European Study on Glycogen Storage Disease type I. *J. Pediatr.*, vol. 137, no. 2, pp. 187–191, Aug. 2000.
- [140] Rotter, JI, Wang, S-J, Yang, H, McElree, C, Pressman, S, Redford, A, Magalong, D, Tyan, D, Shanahan, F, Targan, S, Toyoda, H. Genetic heterogeneity between ulcerative Colitis (UC) and Crohn's disease (CD) identified by molecular HLA class II association (abstr). *Gastroenterology*, vol. 102, p. A688., 1992.
- [141] H. Toyoda, S. J. Wang, H. Y. Yang, A. Redford, D. Magalong, D. Tyan, C. K. McElree, S. R. Pressman, F. Shanahan, and S. R. Targan. Distinct associations of HLA class II genes with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, vol. 104, no. 3, pp. 741–748, Mar. 1993.
- [142] B. Kamińska, P. Landowski, M. Korzon. Udział czynników środowiskowych w etiopatogenezie nieswoistych zapaleń jelit. *Med Wieku Rozw.*, vol. 3, pp. 66–71, 2003.
- [143] B. Kamińska, P. Landowski. Rola wybranych czynników w etiopatogenezie nieswoistych zapaleń jelit. *Forum Med. Rodz.*, vol. 3, no. 1, pp. 42–48, 2009.
- [144] M. Rutkiewicz, P. Landowski, and B. Kamińska. The role of sulphate reducing bacteria in inflammatory bowel disease. A review. *Med. Wieku Rozwoj.*, vol. 11, no. 4, pp. 409–412, Dec. 2007.
- [145] N. Sakamoto, S. Kono, K. Wakai, Y. Fukuda, M. Satomi, T. Shimoyama, Y. Inaba, Y. Miyake, S. Sasaki, K. Okamoto, G. Kobashi, M. Washio, T. Yokoyama, C. Date, H. Tanaka, and Epidemiology Group of the Research Committee on Inflammatory Bowel Disease in Japan. Dietary risk factors for inflammatory bowel disease: a multicenter case-control study in Japan. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 11, no. 2, pp. 154–163, Feb. 2005.

- [146] M. R. Keighley, Y. Arabi, F. Dimock, D. W. Burdon, R. N. Allan, and J. Alexander-Williams. Influence of inflammatory bowel disease on intestinal microflora. *Gut*, vol. 19, no. 12, pp. 1099–1104, Dec. 1978.
- [147] H. Matsuda, Y. Fujiyama, A. Andoh, T. Ushijima, T. Kajinami, and T. Bamba. Characterization of antibody responses against rectal mucosa-associated bacterial flora in patients with ulcerative colitis. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 15, no. 1, pp. 61–68, Jan. 2000.
- [148] P. Marteau, P. Lepage, I. Mangin, A. Suau, J. Doré, P. Pochart, and P. Seksik. Review article: gut flora and inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 20 Suppl 4, pp. 18–23, Oct. 2004.
- [149] C. P. Tamboli, C. Neut, P. Desreumaux, and J. F. Colombel. Dysbiosis as a prerequisite for IBD. *Gut*, vol. 53, no. 7, p. 1057, Jul. 2004.
- [150] C. K. Porter, D. R. Tribble, P. A. Aliaga, H. A. Halvorson, and M. S. Riddle. Infectious gastroenteritis and risk of developing inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, vol. 135, no. 3, pp. 781–786, Sep. 2008.
- [151] N. V. Contractor, H. Bassiri, T. Reya, A. Y. Park, D. C. Baumgart, M. A. Wasik, S. G. Emerson, and S. R. Carding. Lymphoid hyperplasia, autoimmunity, and compromised intestinal intraepithelial lymphocyte development in colitis-free gnotobiotic IL-2-deficient mice. *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 160, no. 1, pp. 385–394, Jan. 1998.
- [152] U. Christen and M. G. von Herrath. Infections and autoimmunity--good or bad?. *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 174, no. 12, pp. 7481–7486, Jun. 2005.
- [153] N.-A. Koloski, L. Bret, and G. Radford-Smith. Hygiene hypothesis in inflammatory bowel disease: a critical review of the literature. *World J. Gastroenterol.*, vol. 14, no. 2, pp. 165–173, Jan. 2008.
- [154] W. I. Khan, P. A. Blennerhasset, A. K. Varghese, S. K. Chowdhury, P. Omsted, Y. Deng, and S. M. Collins. Intestinal nematode infection ameliorates experimental colitis in mice. *Infect. Immun.*, vol. 70, no. 11, pp. 5931–5937, Nov. 2002.
- [155] V. E. Rolfe, P. J. Fortun, C. J. Hawkey, and F. Bath-Hextall. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 4, p. CD004826, 2006.
- [156] T. Birrenbach and U. Böcker. Inflammatory bowel disease and smoking: a review of epidemiology, pathophysiology, and therapeutic implications. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 10, no. 6, pp. 848–859, Nov. 2004.
- [157] R. Ungaro, C. N. Bernstein, R. Gearry, A. Hviid, K.-L. Kolho, M. P. Kronman, S. Shaw, H. Van Kruiningen, J.-F. Colombel, and A. Atreja. Antibiotics associated with increased risk of new-onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: a meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 109, no. 11, pp. 1728–1738, Nov. 2014.
- [158] C. N. Bernstein, Z. Nugent, T. Longobardi, and J. F. Blanchard. Isotretinoin is not associated with inflammatory bowel disease: a population-based case-control study. *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 104, no. 11, pp. 2774–2778, Nov. 2009.
- [159] H. J. Kaufmann and H. L. Taubin. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs activate quiescent inflammatory bowel disease. *Ann. Intern. Med.*, vol. 107, no. 4, pp. 513–516, Oct. 1987.

- [160] J. A. Cornish, E. Tan, C. Simillis, S. K. Clark, J. Teare, and P. P. Tekkis. The risk of oral contraceptives in the etiology of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 103, no. 9, pp. 2394–2400, Sep. 2008.
- [161] R. S. Sandler. Appendicectomy and ulcerative colitis. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 352, no. 9143, pp. 1797–1798, Dec. 1998.
- [162] A. N. Ananthkrishnan, H. Khalili, G. G. Konijeti, L. M. Higuchi, P. de Silva, C. S. Fuchs, J. M. Richter, E. S. Schernhammer, and A. T. Chan. Sleep duration affects risk for ulcerative colitis: a prospective cohort study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.*, vol. 12, no. 11, pp. 1879–1886, Nov. 2014.
- [163] B. R. R. de Mattos, M. P. G. Garcia, J. B. Nogueira, L. N. Paiatto, C. G. Albuquerque, C. L. Souza, L. G. R. Fernandes, W. M. da S. C. Tamashiro, and P. U. Simioni. Inflammatory Bowel Disease: An Overview of Immune Mechanisms and Biological Treatments. *Mediators Inflamm.*, vol. 2015, pp. 1–11, 2015.
- [164] X.-R. Xu, C.-Q. Liu, B.-S. Feng, and Z.-J. Liu. Dysregulation of mucosal immune response in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.*, vol. 20, no. 12, pp. 3255–3264, Mar. 2014.
- [165] D. C. Baumgart and W. J. Sandborn. Crohn's disease. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 380, no. 9853, pp. 1590–1605, Nov. 2012.
- [166] I. Ordás, L. Eckmann, M. Talamini, D. C. Baumgart, and W. J. Sandborn. Ulcerative colitis. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 380, no. 9853, pp. 1606–1619, Nov. 2012.
- [167] C. T. Weaver and R. D. Hatton. Interplay between the TH17 and TReg cell lineages: a (co-)evolutionary perspective. *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 9, no. 12, pp. 883–889, Dec. 2009.
- [168] C. M. Hilkens, H. Vermeulen, R. J. van Neerven, F. G. Snijdwint, E. A. Wierenga, and M. L. Kapsenberg. Differential modulation of T helper type 1 (Th1) and T helper type 2 (Th2) cytokine secretion by prostaglandin E2 critically depends on interleukin-2. *Eur. J. Immunol.*, vol. 25, no. 1, pp. 59–63, Jan. 1995.
- [169] J. H. Buckner. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 10, no. 12, pp. 849–859, Dec. 2010.
- [170] O. F. Beser, C. D. Conde, N. K. Serwas, F. C. Cokugras, T. Kutlu, K. Boztug, and T. Erkan. Clinical features of interleukin 10 receptor gene mutations in children with very early-onset inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 60, no. 3, pp. 332–338, Mar. 2015.
- [171] C. L. Sutton, H. Yang, Z. Li, J. I. Rotter, S. R. Targan, and J. Braun. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies in affected and unaffected relatives of patients with Crohn's disease. *Gut*, vol. 46, no. 1, pp. 58–63, Jan. 2000.
- [172] J. F. Quinton, B. Sendid, D. Reumaux, P. Duthilleul, A. Cortot, B. Grandbastien, G. Charrier, S. R. Targan, J. F. Colombel, and D. Poulain. Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut*, vol. 42, no. 6, pp. 788–791, Jun. 1998.
- [173] IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Inflammatory bowel disease in children and adolescents:

recommendations for diagnosis--the Porto criteria. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 41, no. 1, pp. 1–7, Jul. 2005.

- [174] A. Sawczenko and B. K. Sandhu. Presenting features of inflammatory bowel disease in Great Britain and Ireland. *Arch. Dis. Child.*, vol. 88, no. 11, pp. 995–1000, Nov. 2003.
- [175] J. Ryżko, M. Dądalski, P. Socha, J. Kierkuś. Odrębności pediatryczne nieswoistych zapaleń jelit. *Terapia*, vol. 17, no. 6, pp. 33–37, 2009.
- [176] J. S. Hyams. Inflammatory bowel disease. *Pediatr. Rev. Am. Acad. Pediatr.*, vol. 26, no. 9, pp. 314–320, Sep. 2005.
- [177] H. P. Haber and M. Stern. Intestinal ultrasonography in children and young adults: bowel wall thickness is age dependent. *J. Ultrasound Med. Off. J. Am. Inst. Ultrasound Med.*, vol. 19, no. 5, pp. 315–321, May 2000.
- [178] A. Laghi, O. Borrelli, P. Paolantonio, L. Dito, M. Buena de Mesquita, P. Falconieri, R. Passariello, and S. Cucchiara. Contrast enhanced magnetic resonance imaging of the terminal ileum in children with Crohn's disease. *Gut*, vol. 52, no. 3, pp. 393–397, Mar. 2003.
- [179] D. M. H. Dykes and S. A. Saeed. Imaging for Inflammatory Bowel Disease: The New 'Sounding Board. *J. Pediatr.*, vol. 163, no. 3, pp. 625–626, Sep. 2013.
- [180] Ryżko J, Woynarowski M. Ocena przebiegu nieswoistych zapaleń jelit wg systemu punktowego. *Pediatr Pol*, vol. 70, pp. 569–573, 1995.
- [181] Ryżko J, Woynarowski M. Zastosowanie skali punktowej w ocenie aktywności choroby Leśniowskiego - Crohna i wrzodziejącego zapalenia jelita grubego u dzieci. *Pediatr Pol*, vol. 70, pp. 585–9, 1995.
- [182] A. Levine, A. Griffiths, J. Markowitz, D. C. Wilson, D. Turner, R. K. Russell, J. Fell, F. M. Ruemmele, T. Walters, M. Sherlock, M. Dubinsky, and J. S. Hyams. Pediatric modification of the Montreal classification for inflammatory bowel disease: the Paris classification. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 17, no. 6, pp. 1314–1321, Jun. 2011.
- [183] F. M. Ruemmele, G. Veres, K. L. Kolho, A. Griffiths, A. Levine, J. C. Escher, J. Amil Dias, A. Barabino, C. P. Braegger, J. Bronsky, S. Buderus, J. Martín-de-Carpi, L. De Ridder, U. L. Fagerberg, J. P. Hugot, J. Kierkus, S. Kolacek, S. Koletzko, P. Lionetti, E. Miele, V. M. Navas López, A. Paerregaard, R. K. Russell, D. E. Serban, R. Shaoul, P. Van Rheenen, G. Veereman, B. Weiss, D. Wilson, A. Dignass, A. Eliakim, H. Winter, D. Turner, European Crohn's and Colitis Organisation, and European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J. Crohns Colitis*, vol. 8, no. 10, pp. 1179–1207, Oct. 2014.
- [184] D. Turner, A. Levine, J. C. Escher, A. M. Griffiths, R. K. Russell, A. Dignass, J. A. Dias, J. Bronsky, C. P. Braegger, S. Cucchiara, L. de Ridder, U. L. Fagerberg, S. Hussey, J.-P. Hugot, S. Kolacek, K. L. Kolho, P. Lionetti, A. Paerregaard, A. Potapov, R. Rintala, D. E. Serban, A. Staiano, B. Sweeny, G. Veerman, G. Veres, D. C. Wilson, F. M. Ruemmele, European Crohn's and Colitis Organization, and European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 55, no. 3, pp. 340–361, Sep. 2012.
- [185] M. Zachos, M. Tondeur, and A. M. Griffiths. Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 1, pp. 1–46, 2007.

- [186] R. B. Heuschkel, C. C. Menache, J. T. Megerian, and A. E. Baird. Enteral nutrition and corticosteroids in the treatment of acute Crohn's disease in children. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 31, no. 1, pp. 8–15, Jul. 2000.
- [187] P. Dziechciarz, A. Horvath, R. Shamir, and H. Szajewska. Meta-analysis: enteral nutrition in active Crohn's disease in children. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 26, no. 6, pp. 795–806, Sep. 2007.
- [188] M. P. Martínez-Montiel, B. Casis-Herce, G. J. Gómez-Gómez, A. Masedo-González, C. Yela-San Bernardino, C. Piedracoba, and G. Castellano-Tortajada. Pharmacologic therapy for inflammatory bowel disease refractory to steroids. *Clin. Exp. Gastroenterol.*, vol. 8, pp. 257–269, 2015.
- [189] A. M. Griffiths, P. Nguyen, C. Smith, J. H. MacMillan, and P. M. Sherman. Growth and clinical course of children with Crohn's disease. *Gut*, vol. 34, no. 7, pp. 939–943, Jul. 1993.
- [190] K. E. Müller, P. L. Lakatos, A. Arató, J. B. Kovács, Á. Várkonyi, D. Szűcs, E. Szakos, E. Sólyom, M. Kovács, M. Polgár, É. Nemes, I. Guthy, I. Tokodi, G. Tóth, Á. Horváth, A. Tárnok, N. Csoszánzski, M. Balogh, N. Vass, P. Bódi, A. Dezsőfi, L. Gárdos, E. Micskey, M. Papp, Á. Cseh, D. Szabó, P. Vörös, G. Veres, and Hungarian IBD Registry Group (HUPIR). Incidence, Paris classification, and follow-up in a nationwide incident cohort of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 57, no. 5, pp. 576–582, Nov. 2013.
- [191] S. Wenger, S. Nikolaus, S. Howaldt, B. Bokemeyer, A. Sturm, J. C. Preiss, A. M. Schoepfer, A. Stallmach, and C. Schmidt. Predictors for subsequent need for immunosuppressive therapy in early Crohn's disease. *J. Crohns Colitis*, vol. 6, no. 1, pp. 21–28, Feb. 2012.
- [192] J. Ezri, P. Marques-Vidal, and A. Nydegger. Impact of disease and treatments on growth and puberty of pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Digestion*, vol. 85, no. 4, pp. 308–319, 2012.
- [193] M. Ardesia, G. Ferlazzo, and W. Fries. Vitamin D and inflammatory bowel disease. *BioMed Res. Int.*, vol. 2015, p. 470805, 2015.
- [194] M. T. Cantorna, C. Munsick, C. Bemiss, and B. D. Mahon. 1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease. *J. Nutr.*, vol. 130, no. 11, pp. 2648–2652, Nov. 2000.
- [195] M. Froicu, V. Weaver, T. A. Wynn, M. A. McDowell, J. E. Welsh, and M. T. Cantorna. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md.*, vol. 17, no. 12, pp. 2386–2392, Dec. 2003.
- [196] J. H. Ooi, Y. Li, C. J. Rogers, and M. T. Cantorna. Vitamin D regulates the gut microbiome and protects mice from dextran sodium sulfate-induced colitis. *J. Nutr.*, vol. 143, no. 10, pp. 1679–1686, Oct. 2013.
- [197] S. Ardizzone, A. Cassinotti, D. Trabattoni, G. Manzionna, V. Rainone, M. Bevilacqua, A. Massari, G. Manes, G. Maconi, M. Clerici, and G. Bianchi Porro. Immunomodulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on TH1/TH2 cytokines in inflammatory bowel disease: an in vitro study. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 22, no. 1, pp. 63–71, Mar. 2009.

- [198] M. Ham, M. S. Longhi, C. Lahiff, A. Cheifetz, S. Robson, and A. C. Moss. Vitamin D levels in adults with Crohn's disease are responsive to disease activity and treatment. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 20, no. 5, pp. 856–860, May 2014.
- [199] A. Sonnenberg, H. Ehms, G. E. Sonnenberg, and G. Strohmeyer. 25-hydroxycholecalciferol serum levels in patients with Crohn's disease. *Acta Hepatogastroenterol. (Stuttg.)*, vol. 24, no. 4, pp. 293–295, Aug. 1977.
- [200] T. N. Suibhne, G. Cox, M. Healy, C. O'Morain, and M. O'Sullivan. Vitamin D deficiency in Crohn's disease: prevalence, risk factors and supplement use in an outpatient setting. *J. Crohns Colitis*, vol. 6, no. 2, pp. 182–188, Mar. 2012.
- [201] S. Ardizzone, S. Bollani, P. Bettica, M. Bevilacqua, P. Molteni, and G. Bianchi Porro. Altered bone metabolism in inflammatory bowel disease: there is a difference between Crohn's disease and ulcerative colitis. *J. Intern. Med.*, vol. 247, no. 1, pp. 63–70, Jan. 2000.
- [202] M. Tajika, A. Matsuura, T. Nakamura, T. Suzuki, A. Sawaki, T. Kato, K. Hara, K. Ookubo, K. Yamao, M. Kato, and Y. Muto. Risk factors for vitamin D deficiency in patients with Crohn's disease. *J. Gastroenterol.*, vol. 39, no. 6, pp. 527–533, Jun. 2004.
- [203] M. T. Abreu, V. Kantorovich, E. A. Vasiliauskas, U. Gruntmanis, R. Matuk, K. Daigle, S. Chen, D. Zehnder, Y.-C. Lin, H. Yang, M. Hewison, and J. S. Adams. Measurement of vitamin D levels in inflammatory bowel disease patients reveals a subset of Crohn's disease patients with elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and low bone mineral density. *Gut*, vol. 53, no. 8, pp. 1129–1136, Aug. 2004.
- [204] J. R. de Bruyn, R. van Heeckeren, C. Y. Ponsioen, G. R. van den Brink, M. Löwenberg, A. J. Bredenoord, G. Frijstein, and G. R. D'Haens. Vitamin D deficiency in Crohn's disease and healthy controls: a prospective case-control study in the Netherlands. *J. Crohns Colitis*, vol. 8, no. 10, pp. 1267–1273, Oct. 2014.
- [205] L. E. Veit, L. Maranda, J. Fong, and B. U. Nwosu. The vitamin D status in inflammatory bowel disease. *PloS One*, vol. 9, no. 7, pp. 1–7, 2014.
- [206] J. Silvennoinen. Relationships between vitamin D, parathyroid hormone and bone mineral density in inflammatory bowel disease. *J. Intern. Med.*, vol. 239, no. 2, pp. 131–137, Feb. 1996.
- [207] J. Gilman, F. Shanahan, and K. D. Cashman. Altered levels of biochemical indices of bone turnover and bone-related vitamins in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 23, no. 7, pp. 1007–1016, Apr. 2006.
- [208] H. N. de Souza, F. L. Lora, C. A. M. Kulak, N. C. P. Mañas, H. M. B. Amarante, and V. Z. C. Borba. Low levels of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) in patients with inflammatory bowel disease and its correlation with bone mineral density. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, vol. 52, no. 4, pp. 684–691, Jun. 2008.
- [209] A. D. Harries, R. Brown, R. V. Heatley, L. A. Williams, S. Woodhead, and J. Rhodes. Vitamin D status in Crohn's disease: association with nutrition and disease activity. *Gut*, vol. 26, no. 11, pp. 1197–1203, Nov. 1985.
- [210] M. Rudnicki, A. Frølich, and I. Transbøl. Inappropriate hypercalcitriolemia in ileum-resected patients with Crohn's disease. *Miner. Electrolyte Metab.*, vol. 18, no. 1, pp. 52–55, 1992.

- [211] A. J. Joseph, B. George, A. B. Pulimood, M. S. Seshadri, and A. Chacko. 25 (OH) vitamin D level in Crohn's disease: association with sun exposure & disease activity. *Indian J. Med. Res.*, vol. 130, no. 2, pp. 133–137, Aug. 2009.
- [212] R. M. Issenman, S. A. Atkinson, C. Radoja, and L. Fraher. Longitudinal assessment of growth, mineral metabolism, and bone mass in pediatric Crohn's disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 17, no. 4, pp. 401–406, Nov. 1993.
- [213] R. Gokhale, M. J. Favus, T. Karrison, M. M. Sutton, B. Rich, and B. S. Kirschner, "Bone mineral density assessment in children with inflammatory bowel disease," *Gastroenterology*, vol. 114, no. 5, pp. 902–911, May 1998.
- [214] L.-N. Xue, K.-Q. Xu, W. Zhang, Q. Wang, J. Wu, and X.-Y. Wang. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease: a meta-analysis. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 19, no. 1, pp. 54–60, Jan. 2013.
- [215] L. Wang, Z. T. Wang, J. J. Hu, R. Fan, J. Zhou, and J. Zhong. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Genet. Mol. Res. GMR*, vol. 13, no. 2, pp. 2598–2610, 2014.
- [216] Zespół badaczy projektu OLAF: Agnieszka Rybi-Szumińska, Michał Szumiński, Katarzyna Taranta-Janusz, Edyta Tenderenda, Anna Wasilewska; zespół badaczy projektu OLA. Normy rozwojowe wysokości i masy ciała, wskaźnika masy ciała, obwodu talii i ciśnienia tętniczego dzieci i młodzieży w wieku 3-18 lat. *Stand. Med. – Pediatr.*, vol. 10, no. 1, pp. 3–12, 2013.
- [217] Lins TC, Nogueira LR, Lima RM, Gentil P, Oliveira RJ, Pereira RW. A multiplex single-base extension protocol for genotyping Cdx2, FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms of the vitamin D receptor gene. *Genet Mol Res*, vol. 6, pp. 316–324, 2007.
- [218] Wilks S. The morbid appearance of the intestine of miss Banks. *Med Times Gaz.*, no. 2, pp. 264–269, 1985.
- [219] Leśniowski, A. Przyczynek do chirurgii kiszek. *Medycyna Warszawa*, vol. 31, pp. 460–464, 483–489, 514–518, 1903, 1903.
- [220] B. B. Crohn, L. Ginzburg, and G. D. Oppenheimer. Landmark article Oct 15, 1932. Regional ileitis. A pathological and clinical entity. By Burril B. Crohn, Leon Ginzburg, and Gordon D. Oppenheimer. *JAMA*, vol. 251, no. 1, pp. 73–79, Jan. 1984.
- [221] K. Perzanowska-Brzeszkiewicz, E. Marcinowska-Suchowierska. Witamina D a choroby przewodu pokarmowego. *Postępy Nauk Med.*, vol. 3, pp. 247–251, 2012.
- [222] J. Cosnes, C. Gower-Rousseau, P. Seksik, and A. Cortot. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, vol. 140, no. 6, pp. 1785–1794, May 2011.
- [223] S. Kugathasan, J. Nebel, J. A. Skelton, J. Markowitz, D. Keljo, J. Rosh, N. LeLeiko, D. Mack, A. Griffiths, A. Bousvaros, J. Evans, A. Mezzoff, S. Moyer, M. Oliva-Hemker, A. Otley, M. Pfefferkorn, W. Crandall, R. Wyllie, J. Hyams, Wisconsin Pediatric Inflammatory Bowel Disease Alliance, and Pediatric Inflammatory Bowel Disease Collaborative Research Group. Body mass index in children with newly diagnosed inflammatory bowel disease: observations from two multicenter North American inception cohorts. *J. Pediatr.*, vol. 151, no. 5, pp. 523–527, Nov. 2007.
- [224] S. Vermeire, G. Van Assche, and P. Rutgeerts. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys?. *Gut*, vol. 55, no. 3, pp. 426–431, Mar. 2006.

- [225] R. D. Thomas, J. C. Westengard, K. L. Hay, and B. S. Bull. Calibration and validation for erythrocyte sedimentation tests. Role of the International Committee on Standardization in Hematology reference procedure. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 117, no. 7, pp. 719–723, Jul. 1993.
- [226] J. C. Cabrera-Abreu, P. Davies, Z. Matek, and M. S. Murphy. Performance of blood tests in diagnosis of inflammatory bowel disease in a specialist clinic. *Arch. Dis. Child.*, vol. 89, no. 1, pp. 69–71, Jan. 2004.
- [227] C. Lu, J. Yang, W. Yu, D. Li, Z. Xiang, Y. Lin, and C. Yu. Association between 25(OH)D Level, Ultraviolet Exposure, Geographical Location, and Inflammatory Bowel Disease Activity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One*, vol. 10, no. 7, 2015.
- [228] R. Del Pinto, D. Pietropaoli, A. K. Chandar, C. Ferri, and F. Cominelli. Association Between Inflammatory Bowel Disease and Vitamin D Deficiency: A Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 21, no. 11, pp. 2708–2717, Nov. 2015.
- [229] H. M. Pappa, E. J. Langereis, R. J. Grand, and C. M. Gordon. Prevalence and risk factors for hypovitaminosis D in young patients with inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 53, no. 4, pp. 361–364, Oct. 2011.
- [230] S. A. Abrams, I. J. Griffin, K. M. Hawthorne, S. K. Gunn, C. M. Gundberg, and T. O. Carpenter. Relationships among vitamin D levels, parathyroid hormone, and calcium absorption in young adolescents. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 90, no. 10, pp. 5576–5581, Oct. 2005.
- [231] J. Jahnsen, J. A. Falch, P. Mowinckel, and E. Aadland. Vitamin D status, parathyroid hormone and bone mineral density in patients with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.*, vol. 37, no. 2, pp. 192–199, Feb. 2002.
- [232] S. C. Wong, A. G. A. Catto-Smith, and M. Zacharin. Pathological fractures in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Eur. J. Pediatr.*, vol. 173, no. 2, pp. 141–151, Feb. 2014.
- [233] S. Laakso, H. Valta, M. Verkasalo, S. Toiviainen-Salo, H. Viljakainen, and O. Mäkitie. Impaired bone health in inflammatory bowel disease: a case-control study in 80 pediatric patients. *Calcif. Tissue Int.*, vol. 91, no. 2, pp. 121–130, Aug. 2012.
- [234] T. A. Sentongo, E. J. Semaio, N. Stettler, D. A. Piccoli, V. A. Stallings, and B. S. Zemel. Vitamin D status in children, adolescents, and young adults with Crohn disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 76, no. 5, pp. 1077–1081, Nov. 2002.
- [235] S. Kugathasan, R. H. Judd, R. G. Hoffmann, J. Heikenen, G. Telega, F. Khan, S. Weisdorf-Schindele, W. San Pablo, J. Perrault, R. Park, M. Yaffe, C. Brown, M. T. Rivera-Bennett, I. Halabi, A. Martinez, E. Blank, S. L. Werlin, C. D. Rudolph, D. G. Binion, and Wisconsin Pediatric Inflammatory Bowel Disease Alliance. Epidemiologic and clinical characteristics of children with newly diagnosed inflammatory bowel disease in Wisconsin: a statewide population-based study. *J. Pediatr.*, vol. 143, no. 4, pp. 525–531, Oct. 2003.
- [236] C. I. de Bie, A. Paerregaard, S. Kolacek, F. M. Ruemmele, S. Koletzko, J. M. E. Fell, J. C. Escher, and EUROKIDS Porto IBD Working Group of ESPGHAN. Disease phenotype at diagnosis in pediatric Crohn's disease: 5-year analyses of the EUROKIDS Registry. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 19, no. 2, pp. 378–385, Feb. 2013.

- [237] A. D. Levin, V. Wadhwa, S. T. Leach, H. J. Woodhead, D. A. Lemberg, A. C. Mendoza-Cruz, and A. S. Day. Vitamin D deficiency in children with inflammatory bowel disease. *Dig. Dis. Sci.*, vol. 56, no. 3, pp. 830–836, Mar. 2011.
- [238] L. C. Hofbauer and M. Rauner. Minireview: Live and Let Die: Molecular Effects of Glucocorticoids on Bone Cells. *Mol. Endocrinol.*, vol. 23, no. 10, pp. 1525–1531, Oct. 2009.
- [239] K. E. Whitten, S. T. Leach, T. D. Bohane, H. J. Woodhead, and A. S. Day. Effect of exclusive enteral nutrition on bone turnover in children with Crohn's disease. *J. Gastroenterol.*, vol. 45, no. 4, pp. 399–405, Apr. 2010.
- [240] M. T. Abreu, J. L. Geller, E. A. Vasiliauskas, L. Y. Kam, P. Vora, L. A. Martyak, H. Yang, B. Hu, Y.-C. Lin, G. Keenan, J. Price, C. J. Landers, J. S. Adams, and S. R. Targan. Treatment with infliximab is associated with increased markers of bone formation in patients with Crohn's disease. *J. Clin. Gastroenterol.*, vol. 40, no. 1, pp. 55–63, Jan. 2006.
- [241] M. Thayu, M. B. Leonard, J. S. Hyams, W. V. Crandall, S. Kugathasan, A. R. Otley, A. Olson, J. Johanns, C. W. Marano, R. B. Heuschkel, G. Veereman-Wauters, A. M. Griffiths, R. N. Baldassano, and Reach Study Group. Improvement in biomarkers of bone formation during infliximab therapy in pediatric Crohn's disease: results of the REACH study. *Clin. Gastroenterol. Hepatol. Off. Clin. Pract. J. Am. Gastroenterol. Assoc.*, vol. 6, no. 12, pp. 1378–1384, Dec. 2008.
- [242] V. Nerich, P. Jantchou, M.-C. Boutron-Ruault, E. Monnet, A. Weill, V. Vanbockstael, G.-R. Auleley, C. Balaire, P. Dubost, S. Rican, H. Allemand, and F. Carbonnel. Low exposure to sunlight is a risk factor for Crohn's disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 33, no. 8, pp. 940–945, Apr. 2011.
- [243] P. Jantchou, F. Clavel-Chapelon, A. Racine, M. Kvaskoff, F. Carbonnel, and M.-C. Boutron-Ruault. High residential sun exposure is associated with a low risk of incident Crohn's disease in the prospective E3N cohort. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 20, no. 1, pp. 75–81, Jan. 2014.
- [244] B. N. Limketkai, T. M. Bayless, S. R. Brant, and S. M. Hutfless. Lower regional and temporal ultraviolet exposure is associated with increased rates and severity of inflammatory bowel disease hospitalisation. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 40, no. 5, pp. 508–517, Sep. 2014.
- [245] R. H. Alkhouri, H. Hashmi, R. D. Baker, D. Gelfond, and S. S. Baker. Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 56, no. 1, pp. 89–92, Jan. 2013.
- [246] G. Karagüzel, B. Dilber, G. Çan, A. Ökten, O. Değer, and M. F. Holick. Seasonal vitamin D status of healthy schoolchildren and predictors of low vitamin D status. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 58, no. 5, pp. 654–660, May 2014.
- [247] R. Shoda, K. Matsueda, S. Yamato, and N. Umeda. Epidemiologic analysis of Crohn disease in Japan: increased dietary intake of n-6 polyunsaturated fatty acids and animal protein relates to the increased incidence of Crohn disease in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 63, no. 5, pp. 741–745, May 1996.
- [248] J. K. Hou, B. Abraham, and H. El-Serag. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am. J. Gastroenterol.*, vol. 106, no. 4, pp. 563–573, Apr. 2011.

- [249] E. Richman and J. M. Rhodes. Review article: evidence-based dietary advice for patients with inflammatory bowel disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, vol. 38, no. 10, pp. 1156–1171, Nov. 2013.
- [250] P. A. Rufo, L. A. Denson, F. A. Sylvester, E. Szigethy, P. Sathya, Y. Lu, G. T. Wahbeh, L. M. Sena, and W. A. Faubion. Health supervision in the management of children and adolescents with IBD: NASPGHAN recommendations. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 55, no. 1, pp. 93–108, Jul. 2012.
- [251] M. Czerwionka - Szaflarska. *Żywnienie dzieci zdrowych*. red. W. Kawalec, R. Grenda, and H. Ziółkowska, *Pediatrics*, 1st ed., vol. 1, 2 vols., Warszawa: PZWL, 2015, pp 41-53.
- [252] H. Pappa, M. Thayu, F. Sylvester, M. Leonard, B. Zemel, and C. Gordon. Skeletal health of children and adolescents with inflammatory bowel disease. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, vol. 53, no. 1, pp. 11–25, Jul. 2011.
- [253] L. A. G. Armas, B. W. Hollis, and R. P. Heaney. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 89, no. 11, pp. 5387–5391, Nov. 2004.
- [254] J. Kumar, P. Muntner, F. J. Kaskel, S. M. Hailpern, and M. L. Melamed. Prevalence and associations of 25-hydroxyvitamin D deficiency in US children: NHANES 2001-2004. *Pediatrics*, vol. 124, no. 3, pp. e362–370, Sep. 2009.
- [255] A. Ulitsky, A. N. Ananthakrishnan, A. Naik, S. Skaros, Y. Zadvornova, D. G. Binion, and M. Issa. Vitamin D deficiency in patients with inflammatory bowel disease: association with disease activity and quality of life. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, vol. 35, no. 3, pp. 308–316, May 2011.
- [256] F. A. Farraye, H. Nimitphong, A. Stucchi, K. Dendrinos, A. B. Boulanger, A. Vijjeswarapu, A. Tanennbaum, R. Biancuzzo, T. C. Chen, and M. F. Holick. Use of a novel vitamin D bioavailability test demonstrates that vitamin D absorption is decreased in patients with quiescent Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, vol. 17, no. 10, pp. 2116–2121, Oct. 2011.
- [257] M. R. Clements, T. M. Chalmers, and D. R. Fraser. Enterohepatic circulation of vitamin D: a reappraisal of the hypothesis. *Lancet Lond. Engl.*, vol. 1, no. 8391, pp. 1376–1379, Jun. 1984.
- [258] K. J. Werkstetter, J. Ullrich, S. B. Schatz, C. Prell, B. Koletzko, and S. Koletzko. Lean body mass, physical activity and quality of life in paediatric patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls. *J. Crohns Colitis*, vol. 6, no. 6, pp. 665–673, Jul. 2012.
- [259] M. González-Gross, J. Valtueña, C. Breidenassel, L. A. Moreno, M. Ferrari, M. Kersting, S. De Henauw, F. Gottrand, E. Azzini, K. Widhalm, A. Kafatos, Y. Manios, P. Stehle, and HELENA Study Group. Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. *Br. J. Nutr.*, vol. 107, no. 5, pp. 755–764, Mar. 2012.
- [260] P. Pludowski, W. B. Grant, H. P. Bhattoa, M. Bayer, V. Povoroznyuk, E. Rudenka, H. Ramanau, S. Varbiro, A. Rudenka, E. Karczmarewicz, R. Lorenc, J. Czech-Kowalska, and J. Konstantynowicz. Vitamin d status in central Europe. *Int. J. Endocrinol.*, vol. 2014, p. 589587, 2014.

- [261] E. Karczmarewicz, E. Kryśkiewicz, E. Skorupa, P. Płudowski, R. Lorenc, J. Czech-Kowalska, J. Konstantynowicz. Ocena zaopatrzenia organizmu w witaminę D w reprezentatywnej grupie dzieci polskich. *Stand. Med. – Pediatr.*, vol. 9, no. 5, p. 727.
- [262] M. Wójcik, P. Płudowski, E. Rowińska, E. Pronicka. Stężenie 25(OH)D u noworodków, niemowląt, dzieci i nastolatków - przegląd danych konsultacyjnej poradni pediatrycznej z trzech dekad. *Stand. Med. – Pediatr.*, vol. 12, no. 5, pp. 870–882, 2015.
- [263] H. J. Talib, T. Ponnappakkam, R. Gensure, H. W. Cohen, and S. M. Coupey. Treatment of Vitamin D Deficiency in Predominantly Hispanic and Black Adolescents: A Randomized Clinical Trial. *J. Pediatr.*, vol. 170, pp. 266–272.e1, Mar. 2016.
- [264] K. R. Sonnevile, C. M. Gordon, M. S. Kocher, L. M. Pierce, A. Ramappa, and A. E. Field. Vitamin d, calcium, and dairy intakes and stress fractures among female adolescents. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, vol. 166, no. 7, pp. 595–600, Jul. 2012.
- [265] R. Kelishadi, S. Salek, M. Salek, M. Hashemipour, and M. Movahedian. Effects of vitamin D supplementation on insulin resistance and cardiometabolic risk factors in children with metabolic syndrome: a triple-masked controlled trial. *J. Pediatr. (Rio J.)*, vol. 90, no. 1, pp. 28–34, Feb. 2014.
- [266] H. Narchi, M. El Jamil, and N. Kulaylat. Symptomatic rickets in adolescence. *Arch. Dis. Child.*, vol. 84, no. 6, pp. 501–503, Jun. 2001.
- [267] B. Vásárhelyi, A. Sători, F. Olajos, A. Szabó, and G. Beko. Low vitamin D levels among patients at Semmelweis University: retrospective analysis during a one-year period. *Orv. Hetil.*, vol. 152, no. 32, pp. 1272–1277, Aug. 2011.
- [268] M. F. Holick, T. C. Chen, Z. Lu, and E. Sauter. Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 22 Suppl 2, pp. V28–33, Dec. 2007.
- [269] K. Köstner, N. Denzer, C. S. L. Müller, R. Klein, W. Tilgen, and J. Reichrath. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res.*, vol. 29, no. 9, pp. 3511–3536, Sep. 2009.
- [270] W. H. Li, Z. Gu, H. Wang, and A. Nekrutenko. Evolutionary analyses of the human genome. *Nature*, vol. 409, no. 6822, pp. 847–849, Feb. 2001.
- [271] A. G. Uitterlinden, Y. Fang, J. B. J. Van Meurs, H. A. P. Pols, and J. P. T. M. Van Leeuwen. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene*, vol. 338, no. 2, pp. 143–156, Sep. 2004.
- [272] W. Verbeek, A. F. Gombart, M. Shiohara, M. Campbell, and H. P. Koeffler. Vitamin D receptor: no evidence for allele-specific mRNA stability in cells which are heterozygous for the Taq I restriction enzyme polymorphism. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 238, no. 1, pp. 77–80, Sep. 1997.
- [273] D. L. Kamen and V. Tangpricha. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity. *J. Mol. Med. Berl. Ger.*, vol. 88, no. 5, pp. 441–450, May 2010.
- [274] D. J. Hughes, R. McManus, P. Neary, C. O'morain, and M. O'sullivan. Common variation in the vitamin D receptor gene and risk of inflammatory bowel disease in an Irish case-control study. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 23, no. 9, pp. 807–812, Sep. 2011.

- [275] J. D. Simmons, C. Mullighan, K. I. Welsh, and D. P. Jewell. Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. *Gut*, vol. 47, no. 2, pp. 211–214, Aug. 2000.
- [276] N. Naderi, A. Farnood, M. Habibi, F. Derakhshan, H. Balaii, Z. Motahari, M. R. Agah, F. Firouzi, M. G. Rad, R. Aghazadeh, H. Zojaji, and M. R. Zali. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian patients with inflammatory bowel disease. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, vol. 23, no. 12, pp. 1816–1822, Dec. 2008.
- [277] K. Martin, M. Radlmayr, R. Borchers, M. Heinzlmann, and C. Folwaczny. Candidate genes colocalized to linkage regions in inflammatory bowel disease. *Digestion*, vol. 66, no. 2, pp. 121–126, 2002.
- [278] A. Y. O. M. Carvalho, K. S. Bishop, D. Y. Han, S. Ellett, A. Jesuthasan, W. J. Lam, and L. R. Ferguson. The role of Vitamin D level and related single nucleotide polymorphisms in Crohn's disease. *Nutrients*, vol. 5, no. 10, pp. 3898–3909, Oct. 2013.
- [279] F. G. Hustmyer, H. F. DeLuca, and M. Peacock. ApaI, BsmI, EcoRV and TaqI polymorphisms at the human vitamin D receptor gene locus in Caucasians, blacks and Asians. *Hum. Mol. Genet.*, vol. 2, no. 4, p. 487, Apr. 1993.
- [280] P. W. Jurutka, G. K. Whitfield, J. C. Hsieh, P. D. Thompson, C. A. Haussler, and M. R. Haussler. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. *Rev. Endocr. Metab. Disord.*, vol. 2, no. 2, pp. 203–216, Apr. 2001.
- [281] Y. Fang, J. B. J. van Meurs, A. P. Bergink, A. Hofman, C. M. van Duijn, J. P. T. M. van Leeuwen, H. A. P. Pols, and A. G. Uitterlinden. Cdx-2 polymorphism in the promoter region of the human vitamin D receptor gene determines susceptibility to fracture in the elderly. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 18, no. 9, pp. 1632–1641, Sep. 2003.
- [282] H. Arai, K. I. Miyamoto, M. Yoshida, H. Yamamoto, Y. Taketani, K. Morita, M. Kubota, S. Yoshida, M. Ikeda, F. Watabe, Y. Kanemasa, and E. Takeda. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.*, vol. 16, no. 7, pp. 1256–1264, Jul. 2001.
- [283] S. Xia, X. Lin, M. Guo, L. Jiang, J. Jin, X. Lin, R. Ding, S. Li, and Y. Jiang. An analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms and serum 25-hydroxyvitamin D levels in patients with Crohn's disease. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, vol. 54, no. 7, pp. 601–606, Jul. 2015.
- [284] S. A. Ingles, J. Wang, G. A. Coetzee, E. R. Lee, H. D. Frankl, and R. W. Haile. Vitamin D receptor polymorphisms and risk of colorectal adenomas (United States). *Cancer Causes Control CCC*, vol. 12, no. 7, pp. 607–614, Sep. 2001.
- [285] M. Lipkin. Preclinical and early human studies of calcium and colon cancer prevention. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 889, pp. 120–127, 1999.
- [286] M. L. Slatter, K. Yakumo, M. Hoffman, and S. Neuhausen. Variants of the VDR gene and risk of colon cancer (United States). *Cancer Causes Control CCC*, vol. 12, no. 4, pp. 359–364, May 2001.
- [287] H. S. Kim, P. A. Newcomb, C. M. Ulrich, C. L. Keener, J. Bigler, F. M. Farin, R. M. Bostick, and J. D. Potter. Vitamin D receptor polymorphism and the risk of colorectal adenomas: evidence of interaction with dietary vitamin D and calcium. *Cancer Epidemiol.*

Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol., vol. 10, no. 8, pp. 869–874, Aug. 2001.

- [288] R. Tanabe, Y. Kawamura, N. Tsugawa, M. Haraikawa, N. Sogabe, T. Okano, T. Hosoi, and M. Goseki-Sone. Effects of Fok-I polymorphism in vitamin D receptor gene on serum 25-hydroxyvitamin D, bone-specific alkaline phosphatase and calcaneal quantitative ultrasound parameters in young adults. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, vol. 24, no. 2, pp. 329–335, 2015.
- [289] W. Li, L. Guo, H. Li, C. Sun, X. Cui, G. Song, J. Wang, and Q. Zhang. Polymorphism rs2239185 in vitamin D receptor gene is associated with severe community-acquired pneumonia of children in Chinese Han population: a case-control study. *Eur. J. Pediatr.*, vol. 174, no. 5, pp. 621–629, May 2015.
- [290] K. S. Vimalaswaran, C. Power, and E. Hyppönen. Interaction between vitamin D receptor gene polymorphisms and 25-hydroxyvitamin D concentrations on metabolic and cardiovascular disease outcomes. *Diabetes Metab.*, vol. 40, no. 5, pp. 386–389, Nov. 2014.

11. Spis tabel i rycin

Tabela 1. Polskie zalecenia dotyczące profilaktyki niedoboru witaminy D (2009r.)	16
Tabela 2. Rekomendowane dawki witaminy D w populacji ogólnej.....	16
Tabela 3. Rekomendowane dawki witaminy D w grupach ryzyka niedoboru witaminy D	17
Tabela 4. Objawy oraz powikłania NZJ w modyfikacji własnej	30
Tabela 5. Zmiany makroskopowe w endoskopii oraz mikroskopowe w badaniu histopatologicznym typowe dla chorych z NZJ w modyfikacji własnej.....	32
Tabela 6. Liczba i wiek dzieci w analizowanych grupach.....	40
Tabela 7. Modyfikacja skali Truelove-Wittsa wg Ryżki i Woynarowskiego	41
Tabela 8. Modyfikacja skali PCDAI wg Ryżki i Woynarowskiego	42
Tabela 9. Startery do amplifikacji fragmentów genu <i>VDR</i>	47
Tabela 10. Startery do reakcji minisekwencjonowania	47
Tabela 11. Etapy i warunki reakcji amplifikacji	49
Tabela 12. Etapy i warunki reakcji minisekwencjonowania.....	51
Tabela 13. Liczba i wiek (lata) pacjentów w poszczególnych grupach i podgrupach badanych.....	53
Tabela 14. Płeć dzieci w poszczególnych grupach badanych.....	54
Tabela 15. Bezwzględna liczba punktów skali aktywności choroby dla poszczególnych grup chorych	54
Tabela 16. Stopień aktywności choroby w poszczególnych grupach pacjentów.....	54
Tabela 17. Objawy występujące u pacjentów z NZJ w momencie rozpoznania choroby	59
Tabela 18. Objawy występujące u pacjentów w momencie przeprowadzenia badania	60
Tabela 19. Liczba chorych z przebytymi złamaniami kości w wywiadzie	60
Tabela 20. Wyniki badań laboratoryjnych w badanych grupach dzieci	63
Tabela 21. Leki stosowane u chorych z NZJ w momencie przeprowadzenia badania	65
Tabela 22. Leki stosowane przez pacjentów przed włączeniem do analizy	66
Tabela 23. Częstość ekspozycji na słońce w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych ..	69
Tabela 24. Częstość aktywności fizycznej w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych .	70
Tabela 25. Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w podgrupach chorych.....	71
Tabela 26. Częstość występowania objawów niedoboru witaminy D w podgrupach badanych	72
Tabela 27. Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ z różną aktywnością choroby oraz porównanie z wartościami w grupie porównawczej.....	75
Tabela 28. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących azatioprynę i bez tego typu leczenia	84
Tabela 29. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ, które do chwili włączenia do badania stosowały leki biologiczne i bez tego typu terapii	85
Tabela 30. Frekwencja alleli (%) poszczególnych polimorfizmów genu <i>VDR</i> w grupie NZJ i K.....	95
Tabela 31. Wartość X^2 poszczególnych polimorfizmów w grupie dzieci z NZJ i grupie porównawczej. Wartości $<3,84$ są zgodne z prawem równowagi Hardy'ego-Weinberga	95
Tabela 32. Częstość występowania poszczególnych rodzajów polimorfizmów genu <i>VDR</i> w całej badanej populacji (NZJ + K)	96

Tabela 33. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem Cdx2 genu <i>VDR</i>	98
Tabela 34. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem FokI genu <i>VDR</i>	98
Tabela 35. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem BsmI genu <i>VDR</i>	98
Tabela 36. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem ApaI genu <i>VDR</i>	98
Tabela 37. Związek między występowaniem NZJ a polimorfizmem TaqI genu <i>VDR</i>	98
Rycina 1. Struktura witaminy D ₂ i witaminy D ₃	11
Rycina 2. Przykładowy rozdział produktów amplifikacji fragmentów genu <i>VDR</i> metodą multipleksowego PCR w 1,5% żelu agarozowym w obecności buforu 1x TBE. Żel barwiono w roztworze bromku etydyny. Ścieżka M – wzorzec wielkości DNA GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific™), ścieżki 1-9 –produkty amplifikacji uzyskane dla 9 różnych matryc wyizolowanego genomowego DNA. Produkty o długości 224 i 209 pz migrują w postaci jednego prążka.	50
Rycina 3. Rozkład wieku w badanej grupie dzieci.....	53
Rycina 4. Stopień aktywności choroby w poszczególnych grupach pacjentów	55
Rycina 5. Rozkład wartości BMI w grupie dzieci z NZJ	56
Rycina 6. Liczba badanych w zależności od wartości percentyla BMI.....	57
Rycina 7. Wartości wskaźnika Cole'a w grupie badawczej i porównawczej.....	58
Rycina 8. Rozkład wartości współczynnika Cole'a (%) w grupie pacjentów z NZJ	58
Rycina 9. Liczba pacjentów w poszczególnych grupach w zależności od rozległości zmian chorobowych stwierdzonych w badaniu endoskopowym.....	61
Rycina 10. Rodzaj stosowanego dotychczas leczenia żywieniowego wśród pacjentów z NZJ.....	67
Rycina 11. Pora roku, w której wykonano oznaczenie stężenia 25(OH)D w surowicy krwi.	67
Rycina 12. Częstość ekspozycji na słońce w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych..	68
Rycina 13. Częstość aktywności fizycznej w poszczególnych porach roku w podgrupach badanych.	70
Rycina 14. Częstość spożywania poszczególnych pokarmów w podgrupach chorych	71
Rycina 15. Częstość występowania objawów niedoboru witaminy D w podgrupach badanych.....	72
Rycina 16. Stężenie witaminy D w grupie badawczej i porównawczej	73
Rycina 17. Stężenie witaminy D w analizowanych podgrupach dzieci.....	73
Rycina 18. Stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D w grupie badanej i porównawczej.....	74
Rycina 19. Stężenie witaminy D w zależności od płci w całej analizowanej grupie dzieci (NZJ + K) (109 osób).....	74
Rycina 20. Zależność stężenia witaminy D (ng/ml) od wieku badanych	75
Rycina 21. Stężenie witaminy D u pacjentów z ChLC z różną aktywnością choroby i w grupie porównawczej.....	76
Rycina 22. Stężenie witaminy D u pacjentów z WZJG z różną aktywnością choroby i w grupie porównawczej.....	76
Rycina 23. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z NZJ oraz między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z NZJ.....	77

Rycina 24. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z NZJ.....	77
Rycina 25. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z NZJ	77
Rycina 26. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z ChLC.....	78
Rycina 27. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z ChLC	78
Rycina 28. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z ChLC	78
Rycina 29. Zależność między stężeniem witaminy D a wartością BMI w grupie dzieci z WZJG	79
Rycina 30. Zależność między stężeniem witaminy D a percentylem BMI względem wieku i płci w grupie dzieci z WZJG	79
Rycina 31. Zależność między stężeniem witaminy D a współczynnikiem Cole'a w grupie dzieci z WZJG	79
Rycina 32. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ w zależności od przebytych złamań kości w wywiadzie.....	80
Rycina 33. Stężenie witaminy D a zabiegi operacyjne w wywiadzie u pacjentów z NZJ.....	80
Rycina 34. Stężenie witaminy D w zależności od stosowanej suplementacji witaminy D.....	81
Rycina 35. Stężenie witaminy D w zależności od suplementowanej dawki dobowej w całej grupie badanej (NZJ+K).....	82
Rycina 36. Stężenie witaminy D w zależności od suplementowanej dawki w poszczególnych podgrupach badanych.....	82
Rycina 37. Liczba dzieci przyjmujących sterydy i preparaty witaminy D w grupie badawczej i porównawczej.....	83
Rycina 38. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących sterydy i bez sterydoterapii..	83
Rycina 39. Stężenie witaminy D u pacjentów z NZJ w zależności od przyjmowania glikokortykosterydów i preparatów witaminy D	84
Rycina 40. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ przyjmujących azatioprynę i bez tego typu leczenia.....	84
Rycina 41. Stężenie witaminy D w grupie dzieci z NZJ, które do chwili włączenia do badania stosowały leki biologiczne i bez tego typu terapii.....	85
Rycina 42. Stężenie witaminy D a pora roku, w której wykonywano badania.....	86
Rycina 43. Stężenie witaminy D w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby u pacjentów z ChLC	86
Rycina 44. Stężenie witaminy D w zależności od endoskopowej lokalizacji choroby u pacjentów z WZJG	87
Rycina 45. Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K)	88
Rycina 46. Stężenie witaminy D a ekspozycja na słońce (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K) - linia trendu.....	88

Rycina 47. Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K)	89
Rycina 48. Stężenie witaminy D a aktywność fizyczna (liczba uzyskanych punktów) w całej grupie badanej (NZJ, K) - linia trendu.....	89
Rycina 49. Stężenie witaminy D a częstość spożycia ryb w diecie	90
Rycina 50. Stężenie witaminy D a częstość spożycia jaj w diecie	90
Rycina 51. Stężenie witaminy D a częstość spożycia sera żółtego w diecie	91
Rycina 52. Stężenie witaminy D a częstość spożycia mleka.....	91
Rycina 53. Stężenie witaminy D a częstość spożycia jogurtu w diecie	92
Rycina 54. Średnie dzienne spożycie witaminy D (IU) w diecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej.....	92
Rycina 55. Średnie dzienne spożycie wapnia (mg) w diecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej.....	93
Rycina 56. Średnie spożycie dzienne fosforu (mg) w diecie dzieci chorych z NZJ i w grupie porównawczej.....	93
Rycina 57. Średnie dzienne spożycie witaminy D (IU) w diecie w analizowanych podgrupach	94
Rycina 58. Średnie dzienne spożycie wapnia (mg) w diecie w analizowanych podgrupach.....	94
Rycina 59. Średnie dzienne spożycie fosforu (mg) w diecie w analizowanych podgrupach.....	94
Rycina 60. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu Cdx2 genu <i>VDR</i> w podgrupach badanych	96
Rycina 61. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu FokI genu <i>VDR</i> w podgrupach badanych	96
Rycina 62. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu BsmI genu <i>VDR</i> w podgrupach badanych	97
Rycina 63. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu ApaI genu <i>VDR</i> w podgrupach badanych	97
Rycina 64. Częstość występowania poszczególnych genotypów polimorfizmu TaqI genu <i>VDR</i> w podgrupach badanych	97
Rycina 65. Iloraz szans występowania NZJ w zależności od badano polimorfizmu genu <i>VDR</i>	99
Rycina 66. Stężenie 25(OH)D a poszczególne genotypy polimorfizmu TaqI genu <i>VDR</i> u chorych z NZJ i ChLC	100
Rycina 67. Stężenie 25(OH)D a poszczególne genotypy polimorfizmu BsmI genu <i>VDR</i> u chorych z NZJ i ChLC	101
Rycina 68. Polimorfizm Cdx2 genu <i>VDR</i> a lokalizacja choroby u pacjentów z WZJG	107

12. Aneks

Załącznik 1 Informacja o badaniu i świadoma zgoda badanego

INFORMACJA O BADANIU ORAZ ŚWIADOMA ZGODA BADANEGO

Pełna nazwa programu badawczego

„Rola witaminy D₃ oraz polimorfizmu genu kodującego receptor witaminy D₃ w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit u dzieci”

Nazwisko i imię chorego.....

Data urodzenia.....Wiek.....Płeć.....

Adres.....

Telefon.....

1. Założenia badania.

Niedobór witaminy D u chorych na nieswoiste zapalenia jelit może być przyczyną zaburzeń w funkcjonowaniu gospodarki wapniowo-fosforanowej, co prowadzi do obniżonej gęstości mineralnej kości. Poznanie wariantów genetycznych receptora witaminy D pozwoli być może na ocenę związku danego polimorfizmu genu receptora z gospodarką wapniowo-fosforanową u chorego. Witamina D ma również działanie immunomodulujące, poprzez które mogłaby oddziaływać na aktywność stanu zapalnego w przebiegu choroby.

Celem pracy jest ocena poziomu witaminy D -25(OH)D u dzieci w województwie pomorskim wraz z oceną gospodarki wapniowo-fosforanowej i aktywności choroby oraz ocena polimorfizmu witaminy D i jej związku z w/w parametrami. Znajomość powyższych wyników pozwoli być może na modyfikację leczenia u chorych (ewentualne wprowadzenie suplementacji witaminą D₃) oraz lepsze poznanie patogenyzy schorzenia.

Niniejsze badanie zostało przyjęte i zatwierdzone przez Niezależną Komisję Bioetyczną do Spraw badań naukowych przy Gdańskim Uniwersytecie Medycznym nr 272/2011.

Zadaniem Komisji jest ochrona praw badanego.

Kierownikiem badania jest Karolina Śledzińska, lekarz Klinicznego Oddziału Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed.

Opiekunem tematu badawczego jest dr hab. n. med. Anna Liberek, prof. nadzw. GUMed

2. Postępowanie badawcze.

Od pacjenta zostanie pobrana próbka krwi o objętości 4 ml (2 ml na badania genetyczne oraz 2 ml na badanie poziomu witaminy D). Ocena gospodarki wapniowo-fosforanowej zostanie wykonana z tej samej próbki krwi, która jest pobrana do wykonania badań diagnostycznych czy kontrolnych.

3. Ryzyko związane z badaniem.

Krew na badania zostanie pobrana przy okazji wykonywania innych, niezbędnych badań diagnostycznych i kontrolnych.

Pobieranie krwi wiąże się z pewnymi niedogodnościami - ukłucie, swędzenie wyjątkowo podbiegnięcie krwawe w miejscu ukłucia.

4. Korzyści związane z badaniem.

Ocena poziomu witaminy D - 25(OH)D, gospodarki wapniowo-fosforanowej i aktywności choroby oraz ocena polimorfizmu witaminy D i jej związku z w/w parametrami pozwoli na rozważenie modyfikacji leczenia u chorych (ewentualne wprowadzenie suplementacji witaminą D₃) oraz lepsze poznanie patogenezы schorzenia.

5. Poufność wyników badania.

Zachowamy pełną poufność dotyczącą Państwa dziecka oraz wyników badań. Tajemnicę lekarską zachowamy także w publikacjach, dotyczących analizowanego badania. Jedynie prawomocna decyzja sądu może spowodować ujawnienie danych osobowych. Prawo Państwowe chroni poufność danych osobowych. Państwa dziecka

6. Opłaty.

Za uczestnictwo nie przewidujemy opłaty

7. Jak uzyskać dodatkowe informacje.

Zachęcamy Pana/Panią do zadawania pytań, które dotyczą badania, przed i w czasie jego przebiegu. Otrzyma Pan/Pani także kopię niniejszego pisma do wglądu. Jeśli Pan/Pani będzie miał dodatkowe pytania prosimy dzwonić na numer 691932477

8. Uczestnictwo.

Może Pan/Pani w każdej chwili zrezygnować z uczestnictwa w tym badaniu, po zawiadomieniu lekarza leczącego lub Kliniki Pediatrii, Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia Dzieci GUMed.

9. Podpisy.

Przeczytałem/am i zapoznałem/am się z wyżej podaną informacją oraz możliwością uzyskania dodatkowych informacji ,w każdej chwili. Zgadzam się na uczestnictwo mojego dziecka w badaniu. Otrzymałem/am jedną kopię niniejszego pisma.

Podpis.....(*badanego*)..Data.....

Podpis.....(*rodziców lub prawnego opiekuna*)..Data.....

Ja, niżej podpisany w pełni wyjaśniłem wszelkie szczegóły tego badania choremu lub prawnemu opiekunowi. W pełni świadomie podejmuję się prowadzenia tego badania i rozumiem swoją rolę.

Podpis.....(*badacza*).Nazwisko i imię drukowane.....Data.....

Podpis.....(*świadka*).Nazwisko i imię drukowane.....Data.....

Adres i telefon świadka.....

Załącznik 2 Ankieta - grupa badawcza

Imię i nazwisko.....Data.....
PESEL:.....Płeć: K M
Choroba: Leśniowskiego-Crohna wrzodziejące zapalenie jelita grubego

I. Wywiad

1. Pytania dotyczące choroby

- a. W jakim wieku postawiono rozpoznanie?.....
- b. Jakie były objawy choroby w momencie postawienia rozpoznania?
 - Ból brzucha TAK NIE
 - Biegunka TAK NIE
 - Krew w stolcu TAK NIE
 - Osłabienie TAK NIE
 - Spadek masy ciała TAK NIE
 - Gorączka TAK NIE
 - Bóle stawów TAK NIE
 - Inne?.....
- c. Czy została przeprowadzona operacja narządów jamy brzusznej (np. jelita)?
TAK NIE
- jaką część i jaką długość jelita usunięto?.....
- d. Czy doszło kiedykolwiek do złamania kości? TAK NIE
 - i. Ile razy?.....Kiedy?
- e. Czy w dniu dzisiejszym występują u dziecka poniższe objawy?
 - Ból brzucha TAK NIE
 - Biegunka TAK NIE
 - Krew w stolcu TAK NIE
 - Osłabienie TAK NIE
 - Spadek masy ciała TAK NIE
 - Gorączka TAK NIE
 - Bóle stawów TAK NIE
 - Inne?.....
- f. Czy obecnie pojawiają się bóle mięśni? TAK NIE Jak często?
 - i. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- g. Czy dziecko bywało osłabione? TAK NIE Jak często?
 - i. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- h. Czy pojawiają się drętwienia mięśni? TAK NIE Jak często?
 - i. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- i. Czy pojawiają się bóle kości? TAK NIE Jak często?
 - i. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- j. j. Czy pojawiają się bóle stawów? TAK NIE Jak często?
 - i. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc

2. Leczenie - czy obecnie przyjmowane są:

- a. Aminosalicylany TAK NIE
- jakie?.....dawka?.....
- b. Glikokortykosteroidy TAK NIE
- jakie?.....dawka?.....
- czy dziecko uprzednio stosowało już sterydy? TAK NIE
Jeśli tak, to jaka sumaryczna dawka?.....
- c. Azatiopryna TAK NIE dawka.....
- d. Leki biologiczne TAK NIE ile razy?.....
- e. Inhibitory pompy protonowej TAK NIE
- f. Metronidazol TAK NIE
- g. Debutir TAK NIE
- h. Probiotyki TAK NIE
- i. Preparaty żelaza TAK NIE
- j. Inne - jakie?.....
- k. Czy stosowano kiedykolwiek żywienie pozajelitowe / dojelitowe? TAK NIE

Załącznik 3 Ankieta - grupa kontrolna

Imię i nazwisko.....Data.....
PESEL:.....Płeć: K M
Choroba:.....

I. Wywiad

1. Pytania dotyczące obecnego stanu zdrowia

- a. Czy doszło kiedykolwiek do złamania kości? TAK NIE
i. Ile razy?.....Kiedy?
- b. Czy obecnie pojawiają się bóle mięśni? TAK NIE Jak często?
ii. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- c. Czy dziecko bywało osłabione? TAK NIE Jak często?
iii. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- d. Czy pojawiają się drętwienia mięśni? TAK NIE Jak często?
iv. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- e. Czy pojawiają się bóle kości? TAK NIE Jak często?
v. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc
- f. Czy pojawiają się bóle stawów? TAK NIE Jak często?
vi. Codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc rzadziej niż 1x/mc

2. Stosowane suplementy i witaminy:

- vii. witamina D TAK NIE
jak długo?.....dawka?.....
- viii. Tran TAK NIE
jak długo?.....dawka?.....
- ix. Preparaty wielowitaminowe TAK NIE
- x. Inne.....

3. Pytania dotyczące diety

a. Jak często spożywane są:

- xi. Tłuste ryby: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xii. Jaja: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xiii. Ser codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xiv. Mleko codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xv. Jogurty codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc

4. Styl życia

b. Aktywność fizyczna - co najmniej 30 minut: Rodzaj:.....

- xvi. Lato: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xvii. Jesień: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xviii. Zima: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc
- xix. Wiosna: codziennie kilka razy/tydz kilka razy/mc
rzadziej niż x/mc

- c. Ekspozycja na słońce - co najmniej 30 minut - odkryte ręce, przedramiona i twarz:
- | | | | |
|----------------|-------------------|-----------------|---------------|
| xx. Lato: | codziennie | kilka razy/tydz | kilka razy/mc |
| | rzadziej niż x/mc | | |
| xxi. Jesień: | codziennie | kilka razy/tydz | kilka razy/mc |
| | rzadziej niż x/mc | | |
| xxii. Zima: | codziennie | kilka razy/tydz | kilka razy/mc |
| | rzadziej niż x/mc | | |
| xxiii. Wiosna: | codziennie | kilka razy/tydz | kilka razy/mc |
| | rzadziej niż x/mc | | |
- d. Używanie filtrów przeciwsłonecznych: TAK NIE jaki filtr?.....

II. Badanie fizykalne

Masa ciała:..... pc..... wzrost..... pc...

Współczynnik Cole'a:(%)= $\frac{\text{masa ciała} \times \text{długość standardowa ciała}^2}{\text{standardowa masa ciała} \times \text{długość ciała}^2} \times 100$

Klasyfikacja McLarena:

CI >120%:	otyłość
CI: 110-120%:	nadwaga
CI: 90-110:	norma
CI: 85-90%:	łagodne niedożywienie
CI: 75-85%:	umiarkowane niedożywienie
CI <75%:	ciężkie niedożywienie

BMI:percentyl.....

Odchylenia w badaniu fizykalnym:

III. Wyniki badań laboratoryjnych:

- a. WBC.....neu.....limf.....Hb.....Ht.....PLT.....
- b. Ca.....P.....ALP.....
- c. 25(OH)D.....PTH.....
- d. CRP.....

IV. Dzienniczek żywieniowy

Posilek	Dzień 1	Dzień 2	Dzień 3
Śniadanie			
II śniadanie			
Obiad			
Podwieczorek			
Kolacja			
Płyny			