

Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej  
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Lekarz Urszula Lulewicz-Sobczak

# **Stężenie witaminy D<sub>3</sub> w surowicy krwi, określane metabolitem 25-(OH)-D, u niemowląt i dzieci do lat 3 z miasta Poznania**

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab.n.med. Magdalena Figlerowicz

prof. dr hab.n.med. Wojciech Służewski
--

Poznań, 2021

## **Podziękowania**

Szczególne podziękowania dla prof. dr hab.med. Wojciecha Służewskiego za dostrzeżenie moich możliwości, codzienną mobilizację i roztoczenie niebywalej opieki promotorskiej. Jego pamięci chcę dedykować tę pracę.

Pragnę również podziękować prof. dr hab.med. Magdalenie Figlerowicz za życzliwe przejęcie opieki nad moją pracą, za wsparcie merytoryczne na najwyższym poziomie i olbrzymią dozę empatii i cierpliwości dla moich niedostatków.

Ponadto podziękowania należą się moim współpracownikom z Oddziału Dzieci Młodszych za bardzo wielkie wsparcie i aktywny udział w rekrutacji pacjentów do badania podczas dyżurów.

Nie mogę tutaj zapomnieć o mojej rodzinie, która wspierała mnie i motywowała w chwilach zwątpień i cierpliwie czekała na efekty.

Pamięci profesora dr hab.med. Wojciecha Służewskiego

*Bez Ciebie Profesorze nie byłoby mnie w tym miejscu !*

Urszula Lulewicz-Sobczak

## Spis treści

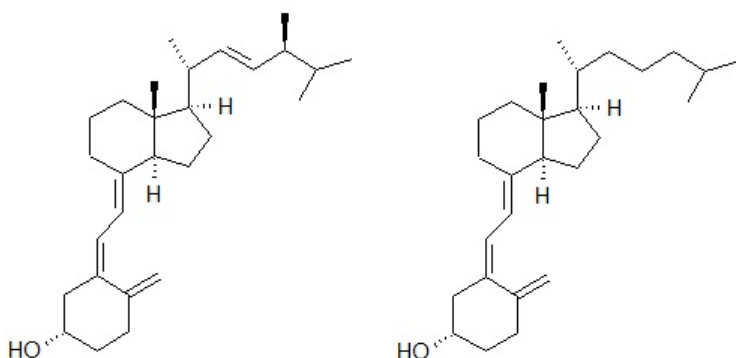
1. Wstęp.....	6
1.1. Witamina D.....	6
1.2. Historia odkrycia witaminy D.....	10
1.3. Źródła witaminy D.....	14
1.3.1. Witamina D3 pochodzenia endogennego.....	14
1.3.1.1. Czynniki ograniczające endogenne źródło witaminy D3.....	16
1.3.2. Egzogenne źródła witaminy D3.....	16
1.4. Działanie kalcitropowe witaminy D3.....	22
1.5. Działanie pozakostne witaminy D3.....	24
1.5.1. Układ odpornościowy.....	25
1.5.2. Układ sercowo- naczyniowy.....	27
1.5.3. Przewód pokarmowy.....	28
1.5.4. Układ nerwowy.....	30
1.5.5. Układ endokryny.....	31
1.5.6. Procesy nowotworowe.....	32
1.6. Deficyt witaminy D3/krzywica.....	34
1.6.1. Postępowanie w deficycie witaminy D3.....	35
1.6.2. Krzywica.....	36
1.7. Toksyczność witaminy D.....	38
2. Cel pracy.....	40
3. Pacjenci, materiał i metody badań.....	40
3.1. Charakterystyka uczestników badania.....	42
3.2. Zakres przeprowadzonych badań.....	44

3.3.	Analiza statystyczna.....	47
4.	Wyniki badań .....	47
4.1.	Usłonecznienie.....	47
4.2.	Suplementacja w trakcie ciąży i laktacji.....	51
4.3.	Wyniki stężenia 25(OH)D w grupach wiekowych.....	58
4.4.	Stężenia 25(OH)D u dzieci z grupy badanej w różnych porach roku	
4.4.1.	Zima.....	60
4.4.2.	Wiosna.....	63
4.4.3.	Lato.....	66
4.4.4.	Jesień.....	69
4.5.	Stężenia 25(OH)D u dzieci z grupy badanej w zależności od sposobu karmienia.....	73
4.6.	Korelacja stężenia 25(OH)D w surowicy krwi z biochemicznymi parametrami gospodarki wapniowo- fosforanowej.....	79
4.7.	Fotoprotekcja – wpływ na wartości 25(OH)D.....	82
4.8.	Woda wodociągowa czy źródłana?.....	87
4.9.	Suplementacja witaminy D u dzieci z grupy badanej.....	90
5.	Podsumowanie wyników.....	91
6.	Dyskusja.....	93
7.	Wnioski.....	103
8.	Streszczenie.....	104
9.	Abstract.....	107
10.	Piśmiennictwo.....	110

# 1. Wstęp

## 1.1 Witamina D

Witamina D jest to grupa rozpuszczalnych w tłuszczach, organicznych związków chemicznych zaliczanych do hormonów steroidowych. Występuje w dwóch formach chemicznych — D2 i D3, które różnią się obecnością podwójnego wiązania pomiędzy atomami węgla 22 i 23 oraz grupy metylowej połączonej z atomem węgla 24 (ryc. 1). Witamina D2 – ergokalcyferol- naturalnie występuje w organizmach roślinnych, a witamina D3 – cholekalcyferol- naturalnie występuje w organizmach zwierzęcych. Należy pamiętać, iż zarówno witamina D2, jak i D3 nie mają aktywności biologicznej, którą uzyskują dopiero w wyniku hydroksylacji atomów węgla (1, 25) ich cząsteczek.



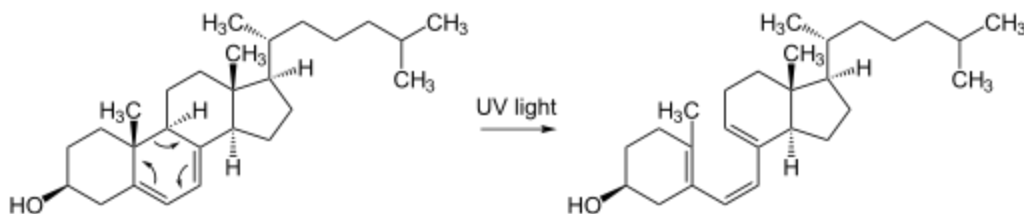
Ryc. 1 Budowa witaminy D2 i D3.

Struktura chemiczna witaminy D2 (ergokalcyferol) i D3 (cholekalcyferol) z zaznaczonymi atomami węgla podlegającymi hydroksylacji.

Aktywność biologiczna witaminy D2 i witaminy D3 jest równoważna [74]. Cholekalcyferol znany powszechnie jako witamina D3 jest rozpuszczalnym w tłuszczach związkiem organicznym o ogólnym wzorze  $C_{27}H_{44}OH$ , należącym do grupy witamin D. Obecnie zaliczany jest do hormonów steroidowych należących do grupy 9, 10 sekosteroidów, które w pierścieniu B mają układ dwóch sprzężonych wiązań podwójnych. [15,74]

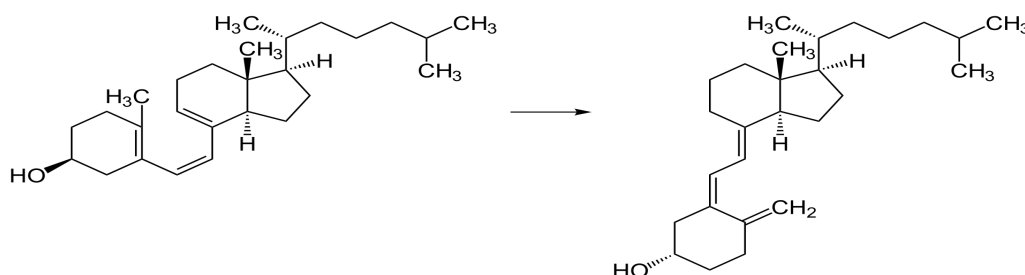
U ssaków występuje w formie nieaktywnej prowitaminy D3 tj. 7-dehydrocholesterolu (7DHC) powstającego z cholesterolu, który występuje w keratynocytach naskórka oraz fibroblastach skóry właściwej. Pod wpływem promieniowania ultrafioletowego UVB o długości fali 290-

315nm, którego energia jest absorbowana przez podwójne wiązanie w pierścieniu B 7DHC, dochodzi w wyniku termicznej izomeryzacji do powstania S-cis, S-cis- prewitaminy D3 (Ryc.2).



Ryc.2 Fotoizomeryzacja 7DHC do pre-witaminy D  
Reakcja fotoizomeryzacji 7DHC w skórze pod wpływem UVB

W wyniku dalszej reakcji termicznej w skórze w powstałej prewitaminie D3, zgromadzonej w warstwie lipidowej błony cytoplazmatycznej, dochodzi do szybkiego przearanżowania podwójnego wiązania i konwersji do bardziej termostabilnej formy, jaką jest witamina D3 (Ryc.3).



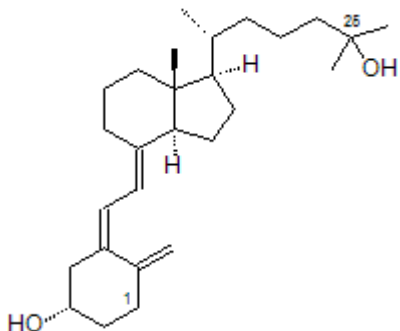
Ryc.3 Izomeryzacja pre-witaminy D do cholekalcyferolu

Skuteczność tej syntezy jest zależna od ilości fotonów UVB penetrujących naskórek, a wydajność równa jest 10% w skali 6h i zależna jest od ilości fotonów UV penetrujących naskórek. W czasie powyższej transformacji witamina D3 jest uwalniana z błony plazmatycznej komórek skóry do przestrzeni pozakomórkowej i dalej z udziałem białka wiążącego witaminę D (ang. *Vitamin D-binding protein*; DBP) transportowana do naczyń włosowatych w ciągu 3 dni od ekspozycji [38, 48,74].

W aspekcie fotosyntezy endogennej witaminy D3 nie należy obawiać się nadprodukcji jej aktywnej formy, gdyż przedłużona ekspozycja na UVB nie powoduje intoksykacji witaminą D3 lecz prowadzi w procesie termicznej izomeryzacji do powstawania form witaminy D3 o

bardzo niskiej aktywności kalcitropowej, takich jak: lumisterol, tachysterol czy supratherol. Wobec braku powinowactwa DBP do tych nieaktywnych fotoproduktów nie przedostają się one do krwioobrotu lecz są usuwane podczas naturalnego złuszczenia warstw naskórka.

Po przedostaniu się witaminy D<sub>3</sub> do krwioobrotu dochodzi do jej metabolicznej aktywacji. Pierwszym etapem aktywacji witaminy D<sub>3</sub> jest hydroksylacja przy atomie C<sub>25</sub> (Ryc.4), która zachodzi w mikrosomach i mitochondriach hepatocytów przy udziale 25- hydroksylazy P450 i jego izoform CYP27A1, CYP3A4, CYP2R1. W wyniku tej reakcji powstaje główny, krążący we krwi metabolit witaminy D<sub>3</sub>, czyli 25-hydroksywitamina D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub>, znana także pod nazwą kalcyfediol. Może być ona magazynowana w wątrobie, skąd uwalniana jest wyłącznie do krwioobrotu podlegając zasadom krążenia wątrobowego [15, 53, 74].

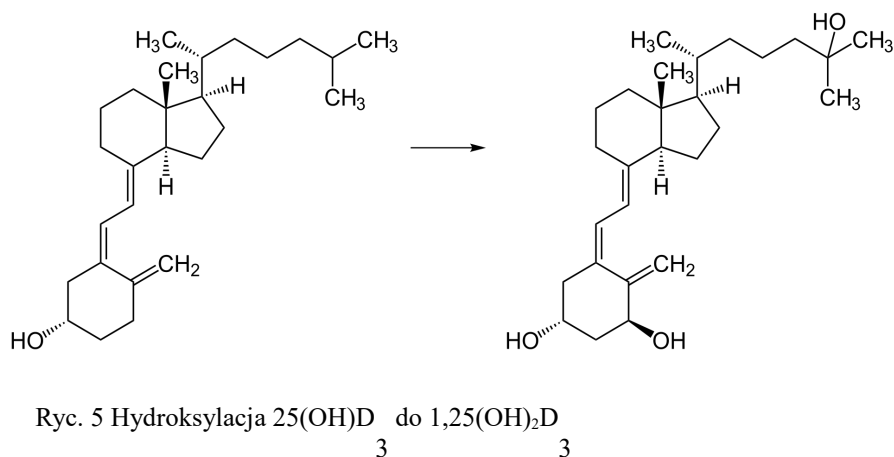


Ryc. 4 Budowa chemiczna 25(OH) D<sub>3</sub>

25(OH)D<sub>3</sub> jest aktywnym metabolitem o długim okresie półtrwania wynoszącym około 21 dni. Oznaczenie jego stężenia pozwala ocenić stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D zarówno pochodzenia endo- jak i egzogenne. 25(OH)D<sub>3</sub> stanowi substrat do dalszej hydroksylacji, która zachodzi w nerkach. Poprzez działanie 1 $\alpha$ - hydroksylazy (CYP27B1) obecnej w mitochondriach i cytochromie P450 komórek nabłonkowych proksymalnych kanalików nerkowych, dochodzi do hydroksylacji przy pierwszym węglu i powstania najaktywniejszej biologicznie formy witaminy D<sub>3</sub>- 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (Ryc.5). Aktywność 1 $\alpha$ -hydroksylazy w kanalikach nerkowych jest największa i co za tym idzie największa ilość 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, konieczna do zapewnienia jej endokrynnego działania, jest syntetyzowana



właśnie tutaj. Regulacja ekspresji genowej CYP27B1 jest kontrolowana głównie na poziomie transkrypcji, poprzez najsilniejsze czynniki stymulujące lub hamujące tę ekspresję tj: stężenie krążącego parathormonu (PTH) i czynnika wzrostu fibroblastów (FGF-23). Podlega ona również mechanizmowi regulacji zwrotnej czyli autoregulacji [5,15,74].



Reakcja chemiczna hydroksylacji przy 1 atomie węgla prowadząca do powstania najaktywniejszej postaci witaminy D<sub>3</sub>.

Aktywność 1 $\alpha$ -hydroksylazy wykryto między innymi w komórkach jelita, osteoblastach, makrofagach, komórkach układu immunologicznego, układu rozrodczego, łożyska i gruczołu piersiowego. Tak zwane "hydroksylazy obwodowe" wpływające na jakość oddziaływania witaminy D<sub>3</sub> na organizm, mogą stanowić jedynie lokalne źródło 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dla potrzeb tkankowych [5,15,76].

Kalcytriol (1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) podlega zwrotnej regulacji przez stymulację 24-hydroksylazy witaminy D, prowadząc do powstania nieaktywnych metabolitów 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, jak również 25,26(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> przy udziale 26-hydroksylazy. W warunkach fizjologicznych w surowicy krwi obecne są trzy główne metabolity witaminy D: 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> i 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, które w miarę upływu czasu są eliminowane z ustroju na skutek konwersji w związki bardziej polarne w tkankach docelowych, a także wydalania z żółcią. Metabolit wątrobowy 25(OH)D<sub>3</sub> ulega eliminacji przez 1- i 24-hydroksylację a dalej wydalaniu z żółcią, po uprzednim jego sprzężeniu z kwasem glukuronowym lub siarkowym. Ustalono, że zaledwie 3% z krążących

w krwi metabolitów ulega wydalaniu z moczem i z kałem. Tak więc stężenie metabolitów witaminy D we krwi jest determinowane nie tylko przez ich syntezę, ale i przez katabolizm oraz wydalanie [5,7,27,74].

W 1974r. badania Brumbaugh'a i Haussler'a przyniosły zaskakujące wówczas odkrycie obecności receptorów dla kalcytriolu (ang. *Vitamin D Receptor- VDR*) na błonach komórkowych większości tkanek i narządów: kości, przewodu pokarmowego, tkanki tłuszczowej, komórek wysp trzustkowych, komórek mięśnia sercowego, komórek śródbłonna i komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, komórek układu immunologicznego, skóry, mózgu, nerek, gruczołów dokrewnych [7, 29]. Receptor ten należy do grupy steroidowych receptorów jądrowych, składa się z 427 aminokwasów i kodowany jest przez gen na chromosomie 12q. Tworzy on heterodimer z receptorem retinoidowym (ang. *Retinoid X Receptor- RXR*) i 1,25(OH)<sub>2</sub>D, dalej łączy się z w obrębie DNA z elementem odpowiedzi na witaminę D ( ang.*vitamin D response element- VDRE*), wpływając poprzez posiadane właściwości czynnika transkrypcyjnego na regulację wielu funkcji komórkowych. Mechanizm ten pozwala wpływać aktywnym metabolitom witaminy D na ekspresję genów, co zostało już udowodnione w zakresie przynajmniej 229 genów, np. IRF8- związek z rozwojem stwardnienia rozsianego (ang. *Sclerosis multiplex-SM*); PTPN2- Choroby Crohna (ang. *Crohne disease-CD*), cukrzyca typu 1[4,37,62,109]. Aktualnie szacuje się, iż witamina D może mieć wpływ na około 5% genów z naszego genomu.

## **1.2. Historia odkrycia witaminy D3**

Pierwsze naukowe opracowanie dotyczące krzywicy pojawiło się w 1645r. w Wielkiej Brytanii opublikowane przez Daniela Whistlera (1619-1684). Pięć lat później prof. Francis Glisson (1597-1677) przedstawił jej dokładny obraz kliniczny: późne zarastanie ciemniaczka, zahamowanie ząbkowania i wzrostu kości długich, rozmiękanie kości potylicy, deformacja klatki piersiowej i kręgosłupa, koślawość kolan, pogrubienie przynasad kości długich

(bransolety krzywiczne) i osłabienie napięcia mięśni brzucha (żabi brzuch). W tamtym czasie zachorowania na krzywicę przybierały rozmiary epidemiczne na terenie Anglii i niektórych innych krajów północnej Europy. Dynamiczny rozwój miast i ich postępujące uprzemysłowienie skutkowało coraz większym zanieczyszczeniem powietrza, które w korelacji ze znaczną jego wilgotnością stanowiły istotną przeszkodę dla promieniowania słonecznego. Stąd też wywodzi się historyczna nazwa krzywicy - „angielska choroba” [109,132].

W badaniach nad tym problemem miał też swój udział Jędrzej Śniadecki (1768-1838), polski lekarz, biolog, chemik i filozof, który w 1822r. zauważył znaczenie światła słonecznego jako elementu nie tylko prewencji, ale również terapii krzywicy [89,132]. W swojej książce „O fizycznym wychowaniu dzieci” pisał: „Należy je przynajmniej nosić lub wozić w wolnym powietrzu zwłaszcza na słońcu, którego bezpośrednie działanie na ciało nasze do najskuteczniejszych sposobów zapobieżenia tej chorobie i jej wyleczenia policzyć należy” [89,132]. Uznaje się, iż był to zwrotny moment w postrzeganiu krzywicy, jej przyczyn i możliwości terapii.

Do związku promieniowania słonecznego i krzywicy nowe spostrzeżenia dokłada 43 lata później francuski lekarz-internista Armand Trousseau, który w wyniku wieloletnich obserwacji wyciągał wnioski, iż choroba ta rozwija się także w następstwie zbyt małej ekspozycji na słońce i złej diety[104,132].

W 1890 roku Theobald Palm w wyniku obserwacji częstotliwości występowania krzywicy na różnych szerokościach geograficznych wykazał zależność zapadalności na tę chorobę od intensywności nasłonecznienia[109]. Ponownie polski akcent w historii prac nad witaminą D, lekarz Jan Raczyński w 1913 roku wykazał związek między ekspozycją na światło słoneczne i gospodarką wapniową organizmu (światło wpływało na osadzanie się wapnia w kościach) [93,132].

Dalsze badania prowadzone przez Huldschinski'ego, tym razem przy użyciu rtęciowych lamp kwarcowych, udowadniały skuteczność promieniowania UV w leczeniu wszystkich form krzywicy u dzieci [93, 104]. Dzieci chorujące na krzywicę poddano dwóm eksperymentom badawczym: w pierwszym badaniu trwającym 2 miesiące uczestniczyło czworo dzieci w wieku 2,5-4,5 lat, w drugim dwadzieścia czworo w wieku 1,5-6,5 lat. W wyniku naświetlania w dawkach rosnących od 2 do 20 minut dziennie, Huldschinsky zaobserwował po 14 dniach kuracji wzmocnienie ich zwiotczonych mięśni, po dwóch miesiącach wyprostowanie sylwetek, zniknięcie wcześniej widocznie wydętych brzuchów [93,132]. W kolejnych latach badano skuteczność leczenia krzywicy poprzez zastosowanie wątroby dorsza. Pionierem w tym zakresie był sir Edward Mellanby profesor farmakologii Uniwersytetu w Sheffield, który w 1921 roku ogłosił, że zapadalność na krzywicę wiąże się z brakiem w spożywanym pokarmie rozpuszczalnej w tłuszczach substancji czynnej, wówczas jeszcze niezidentyfikowanej. W swoich badaniach na królikach i szczurach indukował u nich krzywicę poprzez odpowiednio zubożoną dietę, a następnie regularnym podawaniem tranu łagodził objawy[104,132]. Doświadczenia poprzedników oraz spostrzeżenia własne doprowadziły Elmera McCollum'a (USA) w 1922r. do identyfikacji owego czynnika p/krzywiczego w tranie.

Początkowo sądzono, że elementem aktywnym w zapobieganiu krzywicy jest witamina A. Jednak po usunięciu z oleju frakcji rzeczywistej witaminy A, olej wciąż zachowywał swoje właściwości lecznicze [93,104,132]. Ten kluczowy eksperyment pozwolił na ostateczną biochemiczną identyfikację i nadanie jej nazwy witamina D. Jednakże chemiczna struktura witaminy D określona została dopiero w 1930r przez zespół Adolfa Windausa z Göttingen, co zostało poprzedzone w 1928r. nagrodą Nobla w dziedzinie chemii dla całego zespołu badawczego za studia nad budową steroli i ich związkami z witaminami [109].

Kolejny etap badań naukowych to ustalenie roli światła w etiologii choroby. W 1923 roku, Harry Goldblatt i Katharine Marjorie Soames objaśnili mechanizm procesu zachodzącego w

skórze:" *pod wpływem naświetlania światłem słonecznym prekursor witaminy D (7-dehydrocholesterol, 7DHC) jest przekształcany w rozpuszczalną w tłuszczach witaminę D*"[93]. Podobne wnioski o wpływie promieniowania słonecznego na konwersję cholesterolu w skórce do czynnika antykrzywicznego wyciągnęli ze swoich prac badawczych A. Hess i wsp. (USA) [104,109]. W następnym roku Alfred F. Hess i Mildred Weinstock oraz niezależnie H. Steenbock i A. Black (USA) ogłosili, iż naświetlanie niektórych produktów spożywczych promieniami ultrafioletowymi nadaje im właściwości przeciwkrzywiczne [93,104] . Wówczas rozpoczęto działania na skalę przemysłową mające na celu wzbogacenie produktów mlecznych w witaminę D właśnie poprzez ich naświetlanie promieniami UV. Hess kontynuując swoje badania wykazał, iż jedynie bezpośrednie działanie UV ma skutek terapeutyczny, a umieszczenie na ich drodze choćby szyby znosi praktycznie całkowicie ten efekt [132].

Poznanie struktury chemicznej witaminy oraz w konsekwencji nabycie umiejętności jej chemicznej syntezy pozwoliło w 1937r. firmie farmaceutycznej Merck, jako pierwszej na świecie, na wprowadzenie na rynek syntetycznej witaminy D3 znanej pod nazwą Vigantol [109]. Proces wzbogacanie produktów spożywczych w witaminę D stał się w XXw. powszechnym działaniem profilaktycznym w krajach rozwiniętych, w założeniu skuteczniejszym bo bardziej dostępnym sposobem zapobiegania krzywicy.

Konieczne było kolejne 30 lat aby Mark R. Haussler i wsp. wyizolowali pierwszy aktywny metabolit witaminy D: 25-hydroksywitaminę D3. Następnie niezależnie trzy grupy badawcze zidentyfikowały strukturę końcowej aktywnej postaci witaminy D, czyli 1,25-dihydroksywitaminy D3. Odkryto wówczas także receptor, który w jelicie wiąże aktywny metabolit witaminy D z jądrem komórkowym [104,109]. Liczne prace badawcze prowadzone od lat 70 XX wieku ukazały całkiem nowe oblicze witaminy D, przypominające bardziej prohormon niż klasyczną witaminę. Naukowcy nie ustają w swych staraniach nad ustaleniem

pełnego obrazu plejotropowego działania witaminy D<sub>3</sub>.

### 1.3. Źródła witaminy D<sub>3</sub>

Witaminę D<sub>3</sub> możemy pozyskać z dwóch zasadniczych źródeł:

- endogenne
- egzogenne .

#### 1.3.1. Witamina D<sub>3</sub> pochodzenia endogennego

Właściwa i bezpieczna synteza skórna w okresie letnim jest naturalnym źródłem zaopatrzenia organizmu w witaminę D, dostarczającym około 90% dziennego zapotrzebowania. Synteza skórna, w zależności od ekspozycji na promieniowanie UVB, koloru skóry oraz czasu ekspozycji na promieniowanie UVB 290-315 nm, może być źródłem podaży od 3000 do 30 000 IU witaminy D na dobę. Wiele czynników wydaje się mieć wpływ na wielkość tej syntezy, począwszy od ilości fotonów UVB penetrujących naskórek po koncentrację 7DHC w naskórku. Ten ostatni ma dość stałe stężenie przez większość życia aż po 60-70 rok życia, kiedy to koncentracja 7DHC w naskórku gwałtownie spada. M.Holick wykazał, iż ekspozycja na tę samą ilość fotonów UVB osoby 20-letniej i 70-letniej skutkuje produkcją witaminy D u 70-latka w ilości odpowiadającej 25% produkcji u 20-latka [52,53]. Melanina stanowi naturalny filtr ochronny dla skóry, poprzez efektywne absorbowanie fotonów UVB. Zatem osoby o większej pigmentacji skóry potrzebują większej dawki UVB czyli dłuższej ekspozycji na promieniowanie słoneczne do wytworzenia określonej ilości witaminy D w stosunku do osób o jasnej karnacji. Tę samą rolę pełnią filtry przeciwsłoneczne, które absorbują promieniowanie UVB i niewielką część UVA przed wniknięciem w naskórek. Analogicznie redukują one syntezę skórnej witaminy D<sub>3</sub>, przy czym siła działania jest znamienne większa. Filtr przeciwsłoneczny (*ang.sun protection factor- SPF*) o wskaźniku równym 8 redukuje syntezę skórnej witaminy D<sub>3</sub> o 95%, a SPF powyżej 15 nawet w 99% [39,52,53]. Na wielkość produkcji skórnej mają również wpływ: pora dnia, w której ma

miejsce ekspozycja na promieniowanie słoneczne; pora roku; szerokość geograficzna. Zarówno wczesnym rankiem, jak i późnym popołudniem oraz zimą promienie słoneczne padają na ziemię skośnie pod ostrym kątem, co wiąże się ze zwiększoną absorpcją fotonów UVB przez warstwę ozonową atmosfery wynikającą z wydłużonej drogi przechodzenia fotonów przez tę warstwę. Zimą na terenach położonych powyżej 30<sup>o</sup> szerokości geograficznej północnej tylko nieliczne promienie słoneczne docierają do powierzchni ziemi, nie zapewniając nawet minimalnej syntezy skórnej witaminy D [27,53,75]. Bezpieczna i najbardziej efektywna w zakresie syntezy skórnej jest ekspozycja około 20-35% powierzchni ciała na promieniowanie słoneczne w okresie wiosny, lata i wczesnej jesieni w godzinach 10:00- 15:00 przez okres 5-15minut bez zastosowania filtrów ochronnych. Dłuższa ekspozycja bez zastosowania filtrów ochronnych niesie za sobą ryzyko poparzeń i rozwoju chorób nowotworowych skóry. Ta endogenna synteza witaminy D nie jest jednak w stanie zapewnić całorocznego optymalnego jej stężenia. Płudowski [100,103] udawadnia, iż warunkach polskich (szerokość geograficzna) powinna ona być uzupełnieniem całorocznej suplementacji. Wykazano, że nawet wysoka synteza skórna w okresie letnim (ekspozycja na promieniowanie słoneczne latem około 35% powierzchni ciała minimum 90 minut dziennie) wciąż wymaga suplementacji witaminą D w okresie zimowym w dawce dobowej 1300 IU dla utrzymania zbudowanego latem poziomu 25(OH)D w surowicy > 30 ng/ml w populacji europejskiej rasy białej. Niska synteza skórna latem (ekspozycja na promieniowanie słoneczne latem około 18% powierzchni ciała minimum 20 minut dziennie) wymaga suplementacji całorocznej od 2500-1000 IU/dzień (tab. 3) (46-48). Najnowsze badania polskie wykazały, że położenie geograficzne Polski praktycznie wyklucza możliwość efektywnej fotosyntezy witaminy D nawet w miesiącach letnich (49), dlatego też uzyskanie i utrzymanie optymalnego stężenia 25(OH)D, przynajmniej u osób dorosłych, powinno opierać się o całoroczną suplementację wzmacnianą dietą bogatą w witaminę D.

### **1.3.1.1. Czynniki ograniczające endogenne źródło witaminy D3**

W ostatnich latach zaobserwowano istotną zmianę codziennych zwyczajów, które w sposób dramatyczny ograniczają ekspozycję na promieniowanie słoneczne lub jej efektywność:

1. ograniczenie do minimum czasu przebywania poza pomieszczeniami zamkniętymi
2. przesunięcie aktywności fizycznej na godziny wieczorno- nocne
3. odzież zakrywająca ciało w większości
4. otyłość[53,75].

Można całościowo ująć, iż wpływ na dostępność UVB mają:

#### **1) czynniki środowiskowe:**

- szerokość geograficzna
- pora roku
- pora dnia
- pokrywa chmur
- zanieczyszczenie powietrza

#### **2) czynniki osobnicze:**

- czas spędzony na dworze
- pigmentacja skóry
- okrycie skóry
- wiek
- skład ciała
- czynniki genetyczne warunkujące osobniczą odpowiedź na dawkę UVB i cyrkulację 25(OH)D. [52,75,106]

### **1.3.2. Egzogenne źródła witaminy D3**

Podaż witaminy D wraz z dietą, w tym również suplementacja, powinna uzupełniać pulę syntetyzowaną w skórze. Zatem doustna suplementacja witaminą D musi być odwrotnie proporcjonalna do jej podaży drogą syntezy skórnej [52,53,75].



Badania przekrojowe i interwencyjne wykazały, że problem suplementacji witaminą D należy zatem rozpatrywać w wielu aspektach:

1. suplementacji zdrowej populacji jako uzupełnienia bezpiecznej syntezy skórnej w okresie letnim; 2. identyfikacji pacjentów zagrożonych niedoborami witaminy D (stężenie 25(OH)D w surowicy  $< 30$  ng/ml) oraz ewentualnego doboru dla nich terapii spersonalizowanej („terapia szyta na miarę”) – dobór dawek leczniczych następuje w algorytmie uwzględniającym ciężkość deficytu przed rozpoczęciem leczenia, masę ciała pacjenta oraz czas terapii [73,80].

W roku 2013 zespół międzynarodowych ekspertów, na podstawie systematycznego przeglądu piśmiennictwa i krytycznej dyskusji, opracował „Wytyczne suplementacji witaminąD dla Europy Środkowej - rekomendowane dawki witaminy D dla populacji zdrowej oraz dla grup ryzyka deficytu witaminy D” [100,101]. Wytyczne suplementacji witaminą D opracowano dla wszystkich grup wiekowych populacji Europy Środkowej. Określono również kryteria diagnostyczne charakteryzujące stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D oraz zalecenia dotyczące maksymalnych bezpiecznych dawek ( ang.*Tolerable Upper Intake Levels; upper limits* -ULs) dla populacji osób zdrowych (Tabela 1, tabela 2)[100,101]. Dienne zalecane dawki spożycia witaminy D3 wyraża się w tabelach żywieniowych w mikrogramach [ $\mu\text{g}$ ] lub Jednostkach Międzynarodowych [I.U.]. 1 Jednostka Międzynarodowa [I.U.] = 0,025  $\mu\text{g}$ .

Zgodnie w tymi wytycznymi, które zmodyfikowano w 2018r., rekomendowane są dawki suplementacyjne witaminy D w poszczególnych grupach wiekowych:

Noworodki donoszone i niemowlęta (0–12miesiący):

Bez względu na sposób karmienia (karmienie piersią i/lub mleko modyfikowane) zalecana jest suplementacja witaminy D od pierwszych dni życia.

a) od urodzenia do 6. miesiąca życia:

– niemowlęta karmione piersią – dawką 400 IU/dobę (10,0  $\mu\text{g}$ /dobę)

– niemowlęta karmione mlekiem modyfikowanym powinny otrzymać dawkę 400 IU/dobę

(10,0 µg/dobę) łącznie z diety oraz suplementów

- reasumując zgodnie z nowelizacją z 2018r. niezależnie od sposobu karmienia do 6 miesiąca życia niemowlęta powinny otrzymywać dawkę suplementacyjną 400IU/ dobę.

b) między 6. a 12. miesiącem życia dawka 400–600 IU/dobę (10,0–15,0 µg/dobę)

w zależności od dobowej dawki witaminy D dostarczanej z pokarmem

#### Noworodki urodzone przedwcześnie

jako szczególnie narażone na niedobór witaminy D powinny otrzymywać suplementację od pierwszych dni życia (kiedy tylko będzie możliwe żywienie dojelitowe) w dawce 400–800 IU/dobę (10–20 µg/dobę). Zgodnie z nowelizacją z 2018r. nie zaleca się zwiększonej dawki tylko do momentu osiągnięcia skorygowanego wieku 40. tygodnia ciąży, a potem dawki jak u niemowląt donoszonych [99,100]. Aktualnie rekomendowane jest dawkowanie zależne od czasu trwania ciąży:

a) noworodki urodzone < 32 tygodnia ciąży – rozpoczęcie suplementacji od pierwszych dni życia w dawce 800IU/ dobę niezależnie od sposobu karmienia. W tej grupie dzieci zaleca się prowadzenie suplementacji pod kontrolą stężenia 25(OH)D: pierwsze oznaczenie 4 tygodnie po rozpoczęciu suplementacji i kolejne w opiece ambulatoryjnej

b) noworodki urodzone w 33- 36 tygodniu ciąży – 400IU/ dobę od pierwszych dni życia niezależnie od sposobu karmienia. W tej grupie nie zaleca się rutynowego oznaczania 25(OH)D, poza szczególnymi sytuacjami, jak: żywienie parenteralne trwające > 2 tygodni,

stosowanie ketokonazolu przez okres > 2 tygodni,

leczenie przeciwdrgawkowe,

cholestaza,

masa urodzeniowa < 1500g.

### Dzieci i nastolatki (1–18 lat):

- a) dawka 600–1000 IU/dobę (15,0–25,0 µg/dobę) zależne od masy ciała w okresie od września do kwietnia lub przez cały rok, jeśli synteza skórna jest niewystarczająca
- b) dzieci i nastolatki z otyłością (>90 centyla dla wieku i płci według lokalnych danych dla danego kraju) stanowią grupę ryzyka niedoboru witaminy D; zaleca się suplementację 1200–2000 IU/dobę (30–50 µg/dobę) zależnie od stopnia otyłości w okresie od września do kwietnia lub przez cały rok, jeśli synteza skórna jest niewystarczająca [99.100].

Nowelizacja zaleceń dotyczących suplementacji witaminy D z 2018r. i w tej grupie wiekowej przyniosła pewne zmiany. Mianowicie jednorodną grupę dzieci i nastolatków podzielono na dwie grupy wiekowe (dzieci i młodzież) z nieco odmiennymi rekomendacjami co do dawkowania witaminy D:

- a) dzieci w wieku 1- 10 lat – u dzieci zdrowych w okresie od maja do września suplementacja nie jest konieczna, acz nadal zalecana jeśli synteza skórna nie jest wystarczająca. W okresie od września do maja oraz w razie niespełnienia warunków wystarczającej syntezy skórnej rekomendowana jest suplementacja w dawce 600- 1000IU/dobę, w zależności od masy ciała i podaży witaminy D w diecie.
- b) młodzież w wieku 11- 18 lat - u zdrowych nastolatków również w okresie od maja do września suplementacja nie jest konieczna przy zapewnieniu odpowiedniej syntezy skórnej. W warunkach niewystarczającej syntezy skórnej, jak i w okresie od września do maja rekomendowana jest suplementacja w dawce 800- 2000IU/dobę.

### Dorośli (>18 rż.) i osoby w wieku podeszłym (>65 rż.):

- a) dawka 800–2000 IU/dobę (20,0–50,0 µg/dobę) zależnie od masy ciała w okresie od września do kwietnia lub przez cały rok, jeśli synteza skórna jest niewystarczająca
- b) dawka 800–2000 IU/dobę (20,0–50,0 µg/dobę) u osób w wieku podeszłym przez cały rok, z uwagi na gorszą skuteczność wytwarzania witaminy D w skórze

c) osoby otyłe ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) powinny przyjmować przez cały rok dawkę 1600–4000 IU/dobę (40–100  $\mu\text{g/dobę}$ ) zależnie od stopnia otyłości [99,100,101].

Nowelizacja z 2018r. wprowadziła podział tej grupy na trzy rozdzielne z nieco zmodyfikowanymi zaleceniami:

a) dorośli w wieku 19- 65 roku życia- utrzymanie dawki suplementacyjnej w wielkości 800-2000IU/dobę w zależności od masy ciała i podaży witaminy D w diecie w okresie od września do maja lub całorocznie przy braku zapewnienia wystarczającej syntezy skórnej

b) seniorzy w wieku 66- 75 roku życia- utrzymanie wcześniejszych rekomendacji tj. suplementacja w dawce 800- 2000IU/dobę przez cały rok

c) seniorzy > 75 roku życia – suplementacja w dawce 2000- 4000IU/dobę w zależności od masy ciała i podaży witaminy D w diecie. Wielkość dawki determinowana jest zmniejszoną skutecznością syntezy skórnej oraz potencjalnie obniżoną absorpcją z przewodu pokarmowego i zmienionym metabolizmem witaminy D.

#### Kobiety w ciąży i karmiące piersią:

a) kobiety planujące ciążę powinny zastosować suplementację zgodnie z wytycznymi dla dorosłych

b) dawka 1500–2000 IU/dobę (37,5–50  $\mu\text{g/dobę}$ ) co najmniej od II trymestru ciąży.

Ginekolodzy i położnicy powinni rozważyć zalecenie suplementacji witaminy D u kobiet w ciąży od razu po jej potwierdzeniu[100]. Należy zaznaczyć, że ilość witaminy D3 w preparatach wielowitaminowych jest zdecydowanie niewystarczająca.

Wg zaleceń *EVIDAS* z 2018r. zmodyfikowano nieco podejście do wielkości dawki suplementacyjnej, rekomendując prowadzenie suplementacji pod kontrolą stężenia 25(OH)D w surowicy krwi ciężarnej w optymalnym stężeniu > 30- 50ng/ml, a tylko w sytuacji braku możliwości oznaczenia 25(OH)D stosować dawkę 2000IU/dobę przez okres całej ciąży i

laktacji.

Osoby o ciemnej karnacji oraz pracujące w nocy:

a) dawka 1000–2000 IU/dobę (25–50 µg/dobę) zależnie od masy ciała przez cały rok [100].

W aktualnych zaleceniach nie wyodrębnia się tej grupy, włączając ją do grupy seniorów w wieku 66- 75 lat z utrzymaniem wcześniejszych zaleceń .

Jako oddzielną wskazano natomiast grupę ryzyka deficytów witaminy D, włączając do niej przede wszystkim osoby z otyłością niezależnie od wieku, które wymagają zastosowania podwojonej dawki suplementacyjnej przynależnej grupie wiekowej. Ponadto w tej grupie zaleca się ściśle monitorowanie stężenia 25(OH)D w surowicy, w celu utrzymania zabezpieczenia na poziomie > 30- 50ng/ml. Dla grup ryzyka deficytu witaminy D, poza otyłością, przy braku możliwości oznaczania stężenia 25(OH)D rekomenduje się podawanie dawki maksymalnej dla danej grupy wiekowej.

Badania i obserwacje kliniczne ujawniły nowy problem w zakresie suplementacji tj. nadwrażliwość na witaminę D. Rekomendowane jest aktualnie określenie prawdopodobieństwa nadwrażliwości na witaminę D, do których zaliczane są : hiperkalcemia, hiperkalciuria, nefrokalcynoza, kamica nerkowa, mutacja genu CYP24A1, mutacja genu SLC34A1, a także inne postaci nadwrażliwości w wywiadzie u pacjenta lub członków rodziny [100,101].

Tabela 1 . Największe średnie dobowe dawki doustne witaminy D, które prawdopodobnie nie powodują działań niepożądanych (UL)

<b>Dawka</b>	<b>Grupa pacjentów</b>
1000 IU/dobę (25 µg/dobę)	noworodki i niemowlęta
2000 IU/dobę (50 µg/dobę)	dzieci w wieku 1–10 lat
4000 IU/dobę (100 µg/dobę)	dzieci i nastolatki w wieku 11–18 lat
4000 IU/dobę (100 µg/dobę)	dorośli i osoby w wieku podeszłym
4000 IU/dobę (100 µg/dobę)	kobiety w ciąży i karmiące piersią
10 000 IU/dobę (250 µg/dobę)	otyli dorośli i osoby w wieku podeszłym z otyłością

Tabela 2. Bezpieczna maksymalna dawka witaminy D (*TUIL*) nie powodująca ryzyka efektów ubocznych przy uwzględnieniu niedostatecznej ekspozycji światła słonecznego.  
Zalecane normy dietetyczne w µg/dzień (1 Jednostka Międzynarodowa [I.U.] = 0,025 µg).

Dzieci 1-3 lat	550
Dzieci 4-8 lat	550
Chłopcy 9-13 lat	550
Młodzież męska 14-18 lat	550
Mężczyźni 19-30 lat	550
Mężczyźni 31-50 lat	550
Mężczyźni 50-70 lat	1050
Mężczyźni powyżej 70 lat	1550
Dziewczeta 9-13 lat	550
Młodzież żeńska 14-18 lat	550
Kobiety 19-30 lat	550
Kobiety 31-50 lat	550
Kobiety 50-70 lat	1050
Kobiety powyżej 70 lat	1550
Kobiety ciężarne do 18 lat	550
Kobiety ciężarne 19-30 lat	550
Kobiety ciężarne 31-50 lat	550
Kobiety karmiące do 18 lat	550
Kobiety karmiące 19-30 lat	550
Kobiety karmiące 31-50 lat	550

#### 1.4. Działanie kalcitropowe witaminy D3

Wpływ witaminy D na układ kostny to jej działanie klasyczne, opierające się na regulacji gospodarki wapniowo- fosforanowej, utrzymaniu prawidłowej mineralizacji kości poprzez utrzymanie równowagi między kościotworzeniem a resorpcją kostną. Głównym jej zadaniem jest utrzymanie prawidłowego stężenia Ca w surowicy poprzez wpływ na jego absorpcję jelitową, jak i reabsorpcję z tkanki kostnej. Jednym z głównych efektów działania aktywnej formy witaminy D3 jest stymulacja absorpcji Ca w jelitach oraz reabsorpcji Ca w cewkach nerkowych, w mechanizmie transportu przezkomórkowego i pozakomórkowego. Transport przezkomórkowy jest dominujący w proksymalnym odcinku jelita cienkiego, natomiast mechanizm pozakomórkowy dominuje w jelicie czczym i końcowej części jelita krętego [23]. Analogicznie w mechanizmie przezkomórkowym zachodzi reabsorpcja wapnia w kanalikule

dystalnym nerki. Kompleks 1,25(OH)<sub>2</sub>D-VDR stymuluje TRPV5 – kanał wapniowy umieszczony na błonie komórkowej po stronie światła kanalika, który odpowiada za transport wapnia do komórki. Następnie wewnątrz komórki białko wiążące wapń zależne od 1,25(OH)<sub>2</sub>D- CaBP28k wiąże i dalej transportuje wapń. W ostatniej fazie działa pompa wapniowa – PMCA1b oraz wymiennik sodowo-wapniowy – NCX1. W konsekwencji dochodzi do wzrostu stężenia Ca<sup>2+</sup> w surowicy krwi. Przy niedoborze witaminy D zmniejsza się wchłanianie wapnia z przewodu pokarmowego. Hipokalcemia jest bodźcem do wydzielania PTH, co prowadzi do wtórnej nadczynności przytarczyc z następową stałą, wzmożoną resorpcją kości. Skutki niedoborów witaminy D dla kości to **osteomalacja**, czyli zaburzenia mineralizacji przy prawidłowej masie kostnej i **osteoporoza** – zmniejszenie masy kostnej prawidłowo zmineralizowanej. Natomiast w zakresie gospodarki fosforanowej 1,25(OH)<sub>2</sub>D stymuluje reabsorpcję fosforanów w kanaliku proksymalnym nerki poprzez indukcję transportera NPT2A. Niezależnie od stężenia wapnia w surowicy krwi 1,25(OH)<sub>2</sub>D hamuje transkrypcję genu dla PTH, w konsekwencji powodując obniżenie sekrecji PTH. Witamina D aktywuje różnicowanie i namnażanie osteoblastów, wykazuje również działanie antyapoptotyczne na te komórki poprzez blokowanie czynników mitochondrialnych związanych z receptorem FAS (przebłonowy receptor śmierci komórki) [29,44,123]. Ponadto reguluje ona syntezę sialoproteiny kostnej (*ang. bone sialoprotein* - BSP1), która umożliwia adhezję komórek do macierzy kostnej oraz reguluje syntezę białka macierzy gęstości 1 (*ang. densitin matrix protein*- DMP1) przez osteocyt. Kontrolując czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (M-CSF), witamina D pobudza do proliferacji i zapobiega apoptozie osteoblastów, ponadto ułatwia adhezję prekursorów osteoklastów do osteoblastów zrębu przez zwiększenie ekspresji międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej ICAM-1 [6,74,123]. Reguluje ona również aktywność receptora wapniowego, pośrednio wpływając na produkcję parathormonu (PTH) poprzez zmniejszenie proliferacji komórek przytarczyc oraz uwrażliwienie komórek przytarczyc na stężenie Ca, oraz hamowanie

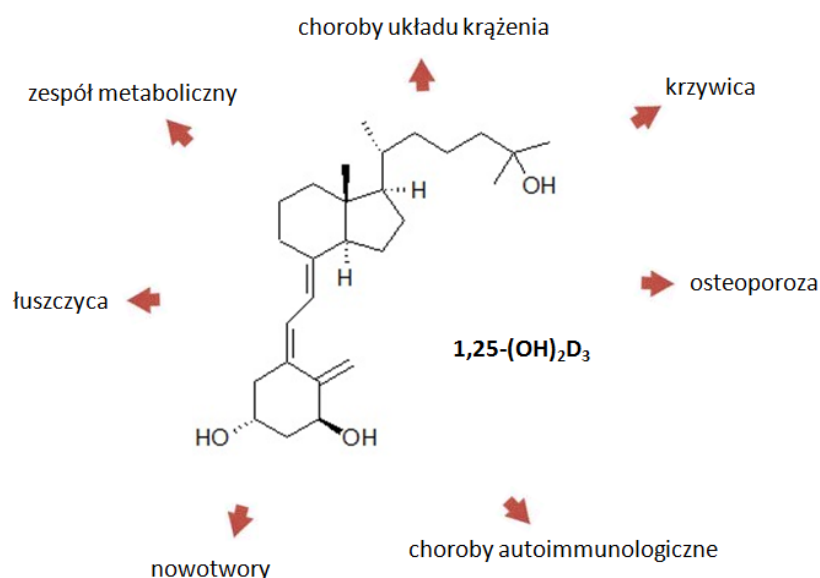
transkrypcji genu dla PTH. W ciągłym procesie remodelingu kostnego regulowanym przez witaminę D jednym z istotnych mechanizmów regulujących aktywność osteoklastów jest szlak metaboliczny RANK- RANKL- OPG [5,6,].

W warunkach fizjologicznych produkcja  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  zachodzi głównie w nerkach, ponadto obecność  $1\alpha$ - hydroksylazy stwierdzono we wszystkich rodzajach komórek kostnych. Tak więc w zakresie pozanerkowej syntezy dla "potrzeb lokalnych" głównym źródłem aktywnej formy witaminy D w tkance kostnej jest kość sama w sobie [59,123,138]. Obserwuje się bowiem ujemną korelację między stężeniem aktywnej witaminy D<sub>3</sub> a kostną  $1\alpha$ -hydroksylazą (CYP27B1), przy dodatniej korelacji z hydroksylazą nerkową.

### **1.5. Działanie pozakostne witaminy D<sub>3</sub>**

Odkrycie obecności receptorów dla kalcytriolu (VDR) na błonach komórkowych większości tkanek i narządów( kości, przewód pokarmowy, tkanka tłuszczowa, komórki wysp trzustkowych, komórki mięśnia sercowego, komórki śródbłonka naczyń, komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych, komórki układu immunologicznego, skóra, mózg, nerki, gruczoły dokrewne) pozwoliło postawić tezę o regulatorowym wpływie witaminy D na te narządy, a zatem o jej plejotropowym działaniu (ryc.6). Badania ostatnich lat zwracają uwagę na zmienność VDR, powstającą na skutek działania szeregu endonukleaz. Początkowo analizowano polimorfizm VDR w najbardziej znanym obszarze działań witaminy D<sub>3</sub> to jest chorobach związanych z metabolizmem kości. Następnie poszerzono badania nad znaczeniem receptora witaminy D<sub>3</sub> w patogenezie chorób o podłożu autoimmunologicznym i chorobach nowotworowych [36,65]. Obserwacje epidemiologiczne krajów północnych tj o relatywnie małym nasłonecznieniu wskazały na zwiększoną zachorowalność na choroby o podłożu autoimmunologicznym, takie jak nieswoiste zapalenie jelit, stwardnienie rozsiane, cukrzyca typu 1, czy reumatoidalne zapalenie stawów [37,138]. Podobne spostrzeżenia poczyniono w zakresie chorób nowotworowych.





Ryc. 6 Plejotropowe działanie witaminy D<sub>3</sub>. [5]  
Schematyczne przedstawienie wielokierunkowości działania aktywnej postaci witaminy D<sub>3</sub>.

### 1.5.1 Układ immunologiczny

Obecność VDR na błonie komórkowej makrofagów, komórek dendrytycznych i aktywowanych limfocytów T dowodzi także wpływu witaminy D na układ immunologiczny. Kalcytriol w połączeniu z VDR stanowi czynnik transkrypcyjny produkcji katelicydyny, peptydu wykazującego działanie przeciwbakteryjne wobec prątków gruźlicy, oraz defensyny, które pobudzają receptory TLR (ang. *Toll Like Receptors*- TLR) na makrofagach i monocytach wzmagając ekspresję CYP27B1, co prowadzi do wzrostu aktywności 1,25 hydroksylazy [68]. Już od lat wiązano witaminę D z działaniem antybakteryjnym poprzez znane zjawisko stymulacji różnicowania prekursorowych monocytów do dojrzałych postaci [117]. Witamina D<sub>3</sub> jest też ważnym regulatorem odpowiedzi immunologicznej poprzez wpływ na limfocyty Th1, które produkują cytokiny IL-2, IFN gamma, TNF alfa oraz na limfocyty Th2, które działają poprzez cytokiny IL- 4 i IL-10 [70]. Ponadto w badaniach in vitro przeprowadzonych przez D'Ambrosio i wsp. udowodniono, iż witamina D<sub>3</sub> hamuje produkcję interleukiny 12 (IL-12) przez aktywowane makrofagi i komórki dendrytyczne, a ma to bezpośredni wpływ na rozwój limfocytów Th1 zaangażowanych w patogenezę chorób

autoimmunologicznych [26]. Wykazano w ten sposób działanie immunosupresyjne witaminy D<sub>3</sub>. Odbywa się to przez hamowanie ekspresji mRNA na poziomie transkrypcji, dla podjednostek *p35* i *p40* IL-12, co jest zależne od ekspresji VDR oraz jego heterodimera RXR [26]. Szereg dalszych badań potwierdza wyżej opisaną rolę VDR w regulacji procesów immunologicznych, głównie działania limfocytów T poprzez regulację produkcji limfocytów Th1, odpowiedzialnych za reakcje autoimmunologiczne, w sprzężeniu z produkcją limfocytów Th2 czy limfocytów T regulatorowych (Treg), które wydzielają IL-10 o działaniu przeciwzapalnym i których aktywność istotnie stymuluje kalcytriol [29]. Limfocyty Treg są odpowiedzialne za hamowanie nadmiernej reakcji przeciwzapalnej, m.in. dlatego witaminie D przypisuje się działanie immunomodulujące. Tsoukas i wsp. w badaniach przeprowadzonych *in vitro* wykazali, iż witamina D<sub>3</sub> hamuje produkcję IL-2, przez co hamuje proliferację limfocytów T. Ponadto stwierdził on, iż witamina D<sub>3</sub> hamuje produkcję limfocytów T cytotoksycznych oraz produkcję przeciwciał przez limfocyty B [117]. Potwierdzają to także inne badania, w których to stwierdzono hamujące działanie witaminy D<sub>3</sub> na proliferację oraz produkcję immunoglobulin przez aktywowane jednojądrowe komórki krwi obwodowej (ang. *peripheral blood mononuclear cells*- PBMC) [117].

Kolejnym obszarem z zakresu immunologii, w którym liczne badania udowodniły znamienne wpływy witaminy D<sub>3</sub> jest cukrzyca typu 1. Badania na zwierzętach i dane epidemiologiczne w populacji ludzkiej wskazują na witaminę D jako potencjalnego modyfikatora rozwoju cukrzycy typu 1 i 2 [5,29]. Imunomodulacja w przypadku tej witaminy wiąże się ze zwiększaniem tolerancji i anergii układu, tj. działań pożądaných w nadaktywności systemu immunologicznego wobec własnych białek, np. w cukrzycy typu 1 [29,85]. Ochronne działanie witaminy D na komórki trzustki, na których wykryto obecność VDR i aktywność CYP27B1, wynika z oddziaływania dimeru VDR-RXR na czynnik transkrypcyjny NFκB i wyhamowania produkcji IFN-γ, IL-2 i IL-5, zaś zwiększenia syntezy

IL-4. Witamina D, hamując aktywację komórek Th1 i ekspresję prozapalnych cytokin, chroni przed autoagresją wynikającą z nadmiernej aktywacji układu odpornościowego [140].

### **1.5.2 Układ sercowo- naczyniowy**

Jak wcześniej wspominałam VDR i  $1\alpha$ -hydroksylazę wykryto także w skórnych naczyniach kapilarnych, komórkach śródbłonna i komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, miocytach i fibroblastach serca [12,29]. Kalcetriol w swym działaniu nieklasycznym wpływa na ekspresję genów kodujących m.in. białka strukturalne, czynnik wzrostu śródbłonna naczyń, metaloproteinazę macierzy-9 (z ang. *matrix metalloproteinases- MMP*) biorącą udział w przebudowie naczyń i destabilizacji blaszek miażdżycowych, miozynę, ale także białka związane z regulacją ciśnienia krwi [12,63]. Wpływ witaminy D na układ sercowo-naczyniowy może być bezpośredni poprzez wpływ na naczynia krwionośne i układ RAA (renina-angiotensyna- aldosteron) lub pośredni poprzez wpływ na procesy metaboliczne i ciśnienie tętnicze krwi [12, 29, 81]. Liczne badania wykazują korelację pomiędzy stężeniem 25(OH)D a ryzykiem incydentów naczyniowo- sercowych oraz ciśnieniem tętniczym krwi. Nie udowodniono natomiast w sposób jednoznaczny istotnego statystycznie wpływu na śmiertelność wśród chorych z CVD (ang. *Cardio- vascular disease*)[63]. Dane literaturowe wskazują, iż hipowitaminoza D wiąże się z zastoinową niewydolnością serca, nagłym zawałem serca oraz chorobą niedokrwinną serca, a także z podwyższonym ciśnieniem krwi, hiperglikemią i otyłością. Wyjaśnienia tych zjawisk upatruje się w fakcie, że  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  wywiera znaczący efekt metaboliczny na kardiomiocyty oraz na mięśniówkę gładką i endometrium naczyń krwionośnych [12]. Metaanaliza przeprowadzona przez J. Parker i wsp. w 2009 roku uwzględniająca wyniki z 28 badań (łącznie 99 745 uczestników), pokazuje iż w ponad 85% badań stwierdzono że wysokie stężenie 25(OH)D wiąże się z niższą częstością występowania zaburzeń kardiometabolicznych. Zaobserwowano też, że wysokie zaopatrzenie w witaminę D wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia cukrzycy typu II aż o 55%, ryzyka zaburzeń sercowo-naczyniowych o 33%, zaś zespołu metabolicznego o 51% [12,63].

Michael F. Holick opublikował dane wskazujące, że odnotowany u dorosłych bez historii chorób układu krążenia, obserwowanych przez ponad 5 lat, wskaźnik śmiertelności jak i ilość zawałów serca czy udarów niedokrwiennych niezakończonych zgonem były o 53-80% wyższe u osób z poziomem 25(OH)D<sub>3</sub> poniżej 20 ng/ml [42-52].

Możliwe drogi kardioprotekcyjnego działania witaminy D to:

- korzystny wpływ na insulinowrażliwość, co przekłada się na stan śródbłonna naczyniowego,
  - hamowanie ekspresji molekuł adhezyjnych w śródbłonku,
  - hamowanie peroksydacji lipidów i proliferacji mięśni gładkich ściany naczyniowej w ścianie naczyniowej,
  - hamowanie kalcyfikacji ściany naczyniowej przez wpływ na białka morfogenetyczne kości (dane niejednoznaczne)[29].
- Z badań obserwacyjnych nie wypływają jednoznaczne wnioski czy stwierdzany u chorych z CVD deficyt witaminy D jest czynnikiem indukującym problem zdrowotny czy tylko przypadkowo występującym odchyleniem.

### **1.5.3 Przewód pokarmowy**

Wobec stwierdzenia obecności VDR również w enterocytach zwrócono uwagę na rolę witaminy D w chorobach przewodu pokarmowego. Wykazano pozytywny wpływ na przebieg zachorowań CD (z ang. *Crohne disease*- CD) i CU (z ang. *Colitis ulcerosa*- CU), w zależności od stwierdzonego polimorfizmu VDR. Zaburzenie równowagi immunologicznej generowanej przez limfocyty Th1 i Th2, która jest regulowana przez witaminę D, ma duże znaczenie w etiopatogenezie m.in. nieswoistego zapalenia jelit, a związane jest to z hamującym wpływem witaminy D na proliferację komórek typu B, ich różnicowanie i w konsekwencji sekrecję immunoglobulin [141]. W tym miejscu warto również wspomnieć o schorzeniach przewodu pokarmowego prowadzących do zaburzeń metabolizmu witaminy D, jak: zaburzenia wydzielania żółci, zaburzenia krążenia wątrobowojelitowego oraz przewlekłe choroby wątroby, prowadzące do zaburzeń hydroksylacji przy 25 węgla oraz mukowiscydozie, w której poprzez zaburzenia wchłaniania tłuszczów mamy w konsekwencji

zaburzenia wchłaniania witaminy D i innych rozpuszczalnych w tłuszczach. Podobnie zespół krótkiego jelita i zespoły zaburzeń wchłaniania, w tym choroba trzewna, w znaczący sposób upośledzają wchłanianie witaminy D, prowadząc do jej deficytu w organizmie [96,113] .

Badania nad witaminą D ujawniły jej związek z otyłością. Kamei i wsp. wykazali obecność receptora VDR w tkance tłuszczowej oraz jego podatność na zmianę stężeń kalcytriolu, co sugeruje udział w witaminy D w regulacji metabolizmu tej tkanki [124]. Postrzegając tkankę tłuszczową nie tylko jako magazyn energetyczny, ale też jako narząd endokryny wydzielający leptynę, adiponektynę i rezystynę, wykazano w badaniach regulujący wpływ VDR na leptynę, a tym samym na pośredni udział w tej regulacji aktywnej postaci witaminy D. Leptyna natomiast pośrednio wpływa na metabolizm witaminy D przez stymulację ekspresji czynnika wzrostu fibroblastów (FGF23) w osteoblastach, który to jest regulatorem metabolizmu witaminy D poprzez hamowanie aktywności  $1\alpha$ -hydroksylazy w nerce[37]. Mając na względzie, iż u podstaw otyłości leży zaburzone wydzielanie insuliny i insulinooporność, istotnym wydaje się być obecność miejsca wiązania VDR w regionie promotorowym genu ludzkiej insuliny i wpływ na aktywność insuliny poprzez możliwość modulowania ekspresji tego receptora przez kalcytriol[37]. Bourlon i wsp. zasugerowali, że kalcytriol nie tylko wzmacnia aktywność komórek  $\beta$  w syntezie insuliny, ale również przyspiesza konwersję proinsuliny w insulinę [ 146].

#### **1.5.4 Układ nerwowy**

Obecność receptorów VDR na komórkach układu nerwowego, odkryta w 1982r., pozwala przypuszczać że i tutaj możemy obserwować działanie witaminy D. VDR wykryto między innymi w strukturach mózgu, które uczestniczą m.in. w procesach regulacji emocji i nastroju (kora zakrętu obręczy, hipokamp, wzgórze, podwzgórze). Wykazano, iż związek ten może mieć działanie neuroprotecyjne poprzez zmniejszenie stężenia jonów wapnia w mózgu, co prowadzi do zmniejszenia ekspresji kanałów wapniowych typu L, odpowiedzialnych za procesy destrukcyjne tkanki mózgowej[14]. Hamuje również ekspresję indukowalnej syntazy

tlenku azotu, enzymu którego ekspresja wzrasta w komórkach w czasie niedokrwienia i w chorobach neurodegeneracyjnych[32]. Może opóźniać związane z wiekiem zmiany gęstości neuronów w obrębie hipokampa poprzez aktywację NGF (ang. *nerv growth factor*), której dość silnym stymulatorem jest ekspresja VDR [14,22,70]. Co raz częściej uznaje się, iż witamina D może zmniejszać ryzyko wystąpienia demencji, hamować progresję chorób neurodegeneracyjnych [32]. W chorobach ze spektrum neuropsychiatrycznego wykazano, iż kalcytriol aktywuje ekspresję hydroksylazy tyrozyny, która uczestniczy w syntezie katecholamin, zwiększając produkcję dopaminy, noradrenaliny oraz adrenaliny [143]. Może także wzmacniać przewodnictwo cholinergiczne, aktywując acetylocholino-transferazę, enzym uczestniczący w syntezie acetylocholiny [14]. Witamina D3 indukuje też neurotropowe czynniki wzrostu, jak NGF i GDNF, NT-3, które mogą mieć znaczenie w rozwoju zaburzeń depresyjnych i schizofrenii. Stwardnienie rozsiane (z *lac.sclerosis multiplex*- SM) jest jednym z lepiej opisanych schorzeń o udowodnionej korelacji z witaminą D. Już w 1974r. P. Goldberg sformułował zależność występowania SM od czynników środowiskowych, w tym hypowitaminozy D związanej z szerokością geograficzną zamieszkania [62,66]. Prowadzone przez lata wielośrodkowe badania wskazują na istotne zmniejszenie ryzyka wystąpienia SM u osób poddawanych już od dzieciństwa regularnej ekspozycji na słońce (iloraz ryzyka = 0,48). W kolejnych badaniach Goldberg udowadnia, iż suplementacja witaminy D zmniejsza u chorych na SM liczbę zaostrzeń nawet o 27% [66]. Zarówno prospektywne, jak i retrospektywne badania prowadzone na chorych z SM wskazywały na istotny modulujący wpływ witaminy D zarówno pochodzenia endogennego, jak i egzogenego. Przy czym wyniki badań zdają się wyraźnie sugerować, iż rekomendowana wielkość suplementacji tejże witaminy, wystarczająca dla właściwej mineralizacji kości, w przypadku chorych na SM jest niewystarczająca. Wykazano również dużo większą wrażliwość kobiet z SM na wielkość dawki suplementacyjnej, a w konsekwencji zwiększenie ryzyka zaostrzeń choroby [22,66,112]. Związane jest to z synergistycznym działaniem 17-betaestradiolu i 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>.

Pamiętając, iż w patogenezie SM główną rolę pełnią mechanizmy immunologiczne, a witamina D poprzez wpływ na limfocyty T indukujący zwiększenie stosunku limfocytów Th2 do Th1, powoduje wygaszanie stanu zapalnego i hamowanie reakcji autoimmunologicznej, modulując przebieg schorzenia [62,112]. Ponadto jako czynnik transkrypcyjny witamina D wpływa na ekspresję genu IRF8 mającego związek z rozwojem SM.

#### **1.5.5.Układ endokryny**

Ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 1 wiąże się polimorfizm receptora VDR, ale także, jak wykazali Bailey i wsp., polimorfizm genu CYP27B1 kodującego 1 $\alpha$ -hydroksylazę [61,85]. Obecność VDR i ekspresja 1 $\alpha$ -hydroksylazy w komórkach  $\beta$ - trzustki, a także obecność VDRE w regionie promotora genu insuliny wskazuje jednoznacznie na genomowe działanie witaminy D, regulujące metabolizm węglowodanów, co wykazano w badaniach dowodząc pozytywnego wpływu 1,25-(OH)<sub>2</sub>D na transkrypcję genu insuliny oraz ekspresję receptora insuliny [76]. Wg Misiorowskiego, przewlekłe podawanie farmakologicznych dawek kalcytriolu zmniejsza zarówno nasilenie zapalenia komórek wyspowych, jak i częstość występowania cukrzycy u myszy NOD, stanowiących model zwierzęcy cukrzycy typu 1 [85].

Cukrzyca typu 2 jest kolejnym procesem chorobowym, na którego przebieg wydaje się mieć znaczący wpływ witamina D. Przemawia za tym fakt, iż wśród czynników determinujących podatność na cukrzycę typu 2 wskazuje się polimorfizm *BsmI* i *ApaI* VDR, którego miejsce wiązania znajduje się w regionie promotorowym genu ludzkiej insuliny [61,76]. Możliwość modulowania ekspresji tego receptora przez kalcytriol wpływa na aktywność insuliny, poprzez dawkozależny wzrost poziomu mRNA dla dwóch głównych receptorów insuliny, wzrost poziomu ekspresji receptora dla kalcytriolu oraz wzrost odpowiedzi insulinowej w kontroli transportu glukozy, dając w efekcie większą wrażliwość na insulinę. W badaniach na modelu zwierzęcym wykazano, że kalcytriol nie tylko wzmacnia aktywność komórek  $\beta$  w syntezie insuliny, ale również przyspiesza konwersję proinsuliny w insulinę [87]. Bardzo

interesujące i ważne z punktu widzenia terapeutycznego wyniki przedstawili Wang i wsp., wskazując na możliwość zapobiegania nefropatiom pochodzenia cukrzycowego w mechanizmie regulowanego przez kalcytriol zahamowania apoptozy podocytów [29].

W autoimmunologicznym zapaleniu tarczycy zwanym chorobą Hashimoto również wykazano immunomodulujący wpływ witaminy D na przebieg zachorowania. Odnotowywano u chorych znamienny spadek ilości przeciwciał anti-TPO po wyrównaniu wcześniej stwierdzanego deficytu witaminy D. Cały czas jednak żywe są wątpliwości czy niski poziom 25(OH)D wśród pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Hashimoto jest wynikiem postępu choroby autoimmunologicznej czy przyczyną jej wystąpienia.

### **1.5.6 Procesy nowotworowe**

VDR obecny na komórkach nowotworowych umożliwia wpływanie kalcytriolu na procesy mnożenia i różnicowania oraz apoptozy tychże komórek. Wieloletnie obserwacje pozwoliły na udowodnienie wpływu witaminy D na przebieg nowotworów piersi, prostaty, jelita grubego, jajników i trzustki. Mechanizmy działania przeciwnowotworowego witaminy D opierają się na :

- 1) hamowaniu proliferacji komórek nowotworowych poprzez hamowanie kinaz CDK, w konsekwencji braku fosforylacji Rb i zahamowaniu cyklu komórkowego w fazie G1; oraz poprzez hamowanie sygnałów mitogennych przekazywanych przez czynniki wzrostu, a także może hamować aktywność prostaglandyn, które działają jako stymulatory wzrostu komórkowego .
- 2) aktywacji apoptozy przez jeden ze szlaków, w którym przez pochodne witaminy D indukowane jest hamowanie ekspresji protoonkogenu bcl-2, co stwierdzono w komórkach raka sutka i liniach przewlekłej białaczki limfatycznej
- 3) zmniejszenie inwazyjności nowotworu poprzez hamowanie aktywności metaloproteaz i proteaz serynowych, wzrost ekspresji kadheryny E i spadek ekspresji integrzyn  $\alpha 6$  i  $\beta 4$



- 4) hamowanie angiogenezy, obserwowane między innymi w raku prostaty gdzie stwierdzono, że  $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ , prawdopodobnie poprzez interakcję z podjednostką p65 czynnika jądrowego kB (NF-kB, nuclear factor kB), hamuje aktywację transkrypcji genu IL-8, która jest odpowiedzialna za aktywację proliferacji naczyń .  
[140]

Inne doniesienia sugerują również, iż VDR jest także receptorem dla kwasu lichołowego, wchodzącego w skład kwasów żółciowych. Aktywacja VDR czy przez witaminę D3 czy przez kwas lichołowy indukuje ekspresję enzymu CYP3A, należącego do grupy cytochromów, który prowadzi do detoksyfikacji kwasu lichołowego w wątrobie i jelicie. Uważa się, iż ten właśnie mechanizm może tłumaczyć ochronne przeciwnowotworowe działanie witaminy D3 w jelicie [33,88]. W 2009 roku bracia Cedric F. Garland i Frank C. Garland z Uniwersytetu Kalifornijskiego[33] przedstawili teorię, mogąca tłumaczyć związek między hipowitaminozą D a wzrostem agresywności chorób nowotworowych. W proponowanym nowym modelu rozwoju raka kluczową rolę odgrywa stężenie  $25(\text{OH})\text{D}_3$  i wapnia. Opisywana teoria nosi nazwę DINOMIT. Jest to akronim słów charakteryzujących kolejne siedem faz nowotworzenia: *disjunction* (rozdzielenie, tzn. utrata kontaktu pomiędzy komórkami), *initiation* (inicjacja rozwoju przerzutów), *natural selection* (selekcja naturalna najszybciej dzielących się i najbardziej agresywnych komórek nowotworowych), *overgrowth* (nadmierny rozrost), *metastasis* (przerzut), *involution* (inwolucja, czyli „cofnięcie się” zmian nowotworowych dzięki podawaniu witaminy D) oraz *transition* (przemiana komórki agresywnej w „uśpioną”). Bracia Garland w swej teorii DINOMIT, uważają iż „słoneczna witamina” odgrywa istotną rolę w utrzymaniu spójności tkanek, co widać m. in. w przypadku nabłonka przewodów mlekowych w gruczołach sutkowych- zespołu komórek wyjątkowo wrażliwych na zmiany stężeń aktywnych metabolitów witaminy D i jednocześnie bardzo często przechodzących transformację nowotworową. Według proponowanej koncepcji, zaburzenie sygnalizacji międzykomórkowej wynikające z hipowitaminozy D, może

prowadzić do upośledzenia naturalnych mechanizmów wzajemnej kontroli, którą sprawują nad sobą sąsiadujące komórki, co w efekcie prowadzi do rozwoju nowotworu [33]. Wyniki badań epidemiologicznych przeprowadzonych w ciągu ostatnich 20 lat sugerują, że zapadalność na wiele nowotworów, w tym między innymi na raka jelita grubego, jajnika, sutka i prostaty, jest odwrotnie proporcjonalna do szerokości geograficznej i stężenia witaminy D w surowicy [140].

### 1.6. Deficyt witaminy D<sub>3</sub> / krzywica

Niedobór witaminy D<sub>3</sub> i wapnia są dość powszechnym problemem na całym świecie, mającym istotny wpływ na zdrowie i wzrastanie kolejnych pokoleń, a mogącym mieć konsekwencje przez długie lata.

Zgodnie z wytycznymi z "*Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets*" oraz *EVIDAS 2013 [100] i 2018* uznaje się, iż niedobór witaminy D<sub>3</sub> rozpoznajemy przy stężeniach 25(OH)D w surowicy krwi < 20ng/ml. Poniżej przedstawiam pełną interpretację wartości 25(OH)D z dedykowanym trybem postępowania (tab.3).

Tabela 3.

Zalecane działania kliniczne w zależności od stężenia 25(OH)D w surowicy.

<b>Stężenie witaminy D</b>	<b>Diagnoza, zalecenia</b>
0-10 ng/ml (0- 25 nmol/l)	ciężki niedobór witaminy D, konieczne wdrożenie dawek leczniczych uzależnionych od wieku, masy ciała. Oznaczenie 25(OH)D konieczne po 1-3 miesiącach terapii, po uzyskaniu stężenia > 30-50ng/ml redukcja dawki do profilaktycznej.
10-20 ng/ml (25-50 nmol/l)	niedobór znaczny witaminy D, korekta dotychczasowego postępowania suplementacyjnego: zwiększenie dawki witaminy D o 100% lub rozpoczęcie suplementacji w dawce maksymalnej dla grupy wiekowej. Konieczne oznaczenie 25(OH)D po 3 miesiącach. Przy obecności objawów ze strony układu szkieletowego ocena wskaźników gospodarki Ca- P.
20–30 ng/ml (50–75 nmol/l)	stężenie suboptymalne, należy zwiększyć o 50% dobową dawkę witaminy D i oznaczyć 25(OH)D za 6 miesięcy; korekta dotychczasowego postępowania suplementacyjnego
30–50 ng/ml (75–125 nmol/l)	stężenie docelowe zapewniające wielokierunkowe działanie witaminy D, należy utrzymać stosowaną dawkę

50–100 ng/ml (125–250 nmol/l)	stężenie wysokie; należy zmniejszyć dawkę suplementacyjną o 50%, jeśli stężenie jest w górnej granicy tego zakresu lub utrzymać stosowaną dawkę w przypadku niższego stężenia. Przy stężeniu > 75ng/ml wstrzymać podaż witaminy D przez 1-2 miesiące, potem możliwe stosowanie minimalnej dawki rekomendowanej. Konieczne oznaczenie 25(OH)D szczególnie u noworodków, niemowląt i małych dzieci.
>100 ng/ml (250 nmol/l)	stężenie toksyczne; konieczne zaprzestanie suplementacji, dokonanie oceny kalcemii, kalciurii, kontrola 25(OH)D co 1 miesiąc aż do momentu osiągnięcia docelowego stężenia witaminy D tj < 50ng/ml. Ponowna suplementacja możliwa po osiągnięciu normokalcemii, normokalciurii i stężenie 25(OH)D <50ng/ml
>200 ng/ml (500 nmol/l)	zatrucie witaminą D, pacjenci mogą wymagać interwencji medycznych w celu zmniejszenia działań toksycznych, należy bezwzględnie zakończyć suplementację witaminy D

### 1.6.1. Postępowanie w deficycie witaminy D3.

1. Czas leczenia – od 1 do 3 miesięcy. W ciężkim niedoborze rekomendowane 3 miesiące terapii.
2. Zalecane terapeutyczne dawki przy stężeniu 25(OH)D mniejszym niż 10 ng/ml (25 nmol/l) w zależności od wieku i masy ciała pacjenta (tab. 4):
3. Nie stosuje się dawek wysycających 300 000 IU/dobę nawet w przypadku ciężkich niedoborów.

Tabela 4. Zalecane dawki terapeutyczne witaminy D w grupach wiekowych

(wg Recommendation of the Polish Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes and the Expert Panel with participation of National Specialist Consultants and Representatives of Scientific Societies- 2018 Update)

Dawka	Grupa pacjentów
2000 IU/dobę (50 µg/dobę)	noworodki
1000–3000 IU/dobę (25–75 µg/dobę) zależnie od masy ciała	niemowlęta
3000–6000 IU/dobę (75–150 µg/dobę) zależnie od masy ciała	dzieci w wieku 1-10 lat
6000 IU/dobę (150 µg/dobę) niezależnie od masy ciała	> 10 roku życia

4. Cel leczenia: stężenie 25(OH)D w zakresie 30–50 ng/ml (75–125 nmol/l), po jego osiągnięciu można wprowadzić dawkę profilaktyczną.
5. Ocena stężenia 25(OH)D po 3 miesiącach leczenia, następnie kontrola co 6 miesięcy.
6. W przypadku ciężkich niedoborów witaminy D monitorowanie stężenia wapnia,

fosforu, całkowitej aktywności fosfatazy zasadowej, kalciurii w próbce moczu co 3 miesiące.

7. W terapii nie należy używać analogów witaminy D, które zalecane są w przypadku chorób z zaburzeniami hydroksylacji witaminy D (np. przewlekła choroba nerek).
8. W praktyce klinicznej leczenia niedoboru witaminy D, szczególnie u osób dorosłych, przydatny jest **wzór Gronnigena**, który pozwala obliczyć całkowitą dawkę witaminy D w terapii:

**całkowita dawka w terapii [IU] = 40 x (75- stężenie 25(OH)D [nmol/l]) x masa ciała [kg]**

Wyliczoną dawkę należy rozdzielić na 2–3 miesiące kuracji, podawaną codziennie lub 1 x na tydzień. Powyższy wzór nie obowiązuje u pacjentów z masą ciała >135 kg.

9. Metabolit witaminy D obecny w krążeniu charakteryzuje się długim okresem półtrwania (4–6 tyg.) i jest gromadzony w tkankach, dlatego suplementy witaminy D można podawać w różnych schematach: codziennie, co drugi dzień, co tydzień, co dwa tygodnie lub raz na 4 tygodnie [100,101].

### 1.6.2. Krzywica

Krzywica to zaburzenie uszkadzające różnicowanie chondrocyta i mineralizację chrząstki wzrostowej, nieprawidłową mineralizację ostoidu, spowodowane zbyt niskim spożyciem witaminy D<sub>3</sub> i/ lub wapnia przez dzieci. A zatem jest to zespół objawów wtórnych do niedoboru witaminy D, potwierdzonych badaniem radiologicznym kośćca [43,46,86].

Istnieje również pojęcie krzywicy "żywieniowej/ niedoborowej", której ryzyko wystąpienia w odniesieniu do populacji dziecięcej przedstawiają poniższe czynniki[91,107]:

A. Czynniki matczyne:

1. Niedobór witaminy D<sub>3</sub>
  - ciemna pigmentacja skóry

- przykrywanie ubraniem całego ciała
  - wysoka szerokość geograficzna podczas zimy i wiosny
  - inne czynniki ograniczające ekspozycje na UVB ( dominujące życie w pomieszczeniach, zanieczyszczenie powietrza, powłoka chmur, inwalidztwo)
  - dieta uboga w witaminę D3
2. Dieta uboga w wapń
- diety specjalne
  - niedożywienie
  - ubóstwo

#### B. Czynniki ze strony niemowląt/ dzieci:

1. Noworodkowy niedobór witaminy D3 wtórny do niedoboru matczynego
2. Brak suplementacji witaminy D3 u niemowląt
3. Przedłużone karmienie piersią bez właściwego żywienia uzupełniającego po 6 miesiącu życia (należy pamiętać, iż suplementacja wit.D w dawce 600IU/dobę u matek karmiących zabezpiecza ich własne potrzeby, a nie potrzeby dziecka w tym zakresie)
4. Wysoka szerokość geograficzna w okresie zima/ wiosna.
5. Ciemna pigmentacja skóry i/lub ograniczenie ekspozycji na UVB
6. Dieta uboga w witaminę D
7. Dieta uboga w Ca

Wśród czynników ryzyka wystąpienia krzywicy jest nie tylko niedostateczne spożycie witaminy D<sub>3</sub>, ale również wapnia. Zasadnym wydaje się zatem przedstawienie w tym miejscu zalecanego dziennego spożycia wapnia w celu prewencji wystąpienia krzywicy w różnych grupach wiekowych:

1) niemowlęta

0- 6 miesięcy życia → 200mg/dobę

6- 12 miesięcy życia → 260mg/dobę

2) dzieci > 12 miesiąca życia

wystarczające spożycie > 500mg/dobę

niewystarczające spożycie 300- 500mg/dobę

niedobór wapnia w diecie < 300mg/dobę

Spożycie < 300mg/d zwiększa ryzyko krzywicy niezależnie od stężenia 25(OH)D u dzieci w wieku powyżej 12 miesiąca życia [55,106,122].

Minimalna zalecana dawka witaminy D w leczeniu krzywicy niedoborowej wynosi 2000IU/ dobę przez okres minimum 12 tygodni, dodatkowo zalecana jest niezależnie od wieku i masy ciała podaż wapnia w ilości 500 mg/ dobę. Terapię prowadzi się pod kontrolą parametrów biochemicznych i obrazu RTG kości.

### **1.7. Toksyczność witaminy D**

Zatrucie witaminą D (*ang. vitamin d toxicity- VDT*) zwane również hiperwitaminozą D jest bardzo rzadko obserwowanym problemem, występującym u osobników którzy przez długi czas przyjmowali ekstremalnie wysokie dawki witaminy D. Praktycznie dotyczy to wyłącznie podaży suplementacyjnej, nie obserwowano incydentów VDT przy podaży z diety czy ekspozycji na UVB. VDT rozpoznajemy przy znacząco podwyższonym stężeniu 25(OH)D w surowicy krwi tj. > 150ng/ml z towarzyszącymi zaburzeniami biochemicznymi jak: hiperkalcemia, hiperkalciuria i prawie nieoznaczalną aktywnością PTH [56,121]. Stężenia 25(OH)D do 100 ng/ml są powszechnie uznawane za zupełnie bezpieczne dla większości dzieci i dorosłych, poza sytuacjami identyfikowanymi jako nadwrażliwość na witaminę D3 :

- idiopatyczna hiperkalcemia niemowląt
- zespół Williams- Beuren'a
- choroba ziarniniakowa
- chłoniaki.

Analiza wszystkich mechanizmów biorących udział w aktywacji, transporcie i syntezie aktywnego hormonalnie metabolitu  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  oraz mechanizmów biorących udział w ekspresji jego funkcji biologicznych na poziomie genomu (transport na białku wiążącym DBP, hydroksylacja do aktywnych metabolitów w wątrobie (CYP27A1), nerce i innych tkankach obwodowych (CYP27B1), katabolizm w nerce i komórkach obwodowych (CYP24A1), wiązanie z receptorem jądrowym VDR i regulacja ekspresji 5% genomu) pozwoliła na stworzenie 2 istotnych teorii wyjaśniających toksyczność witaminy D w przypadku jej przedawkowania u osób zdrowych [119,121]:

1)  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  ma niskie powinowactwo do DBP, a wysokie do VDR co czyni go istotnym czynnikiem transkrypcyjnym. W sytuacji hiperwitaminozy D stężenie różnych metabolitów witaminy D jest wyraźnie zwiększone przy niezmiennej pojemności białka transportującego, co pozwala na wniknięcie tymże do jądra komórkowego. A zatem nieaktywny metabolit  $25(\text{OH})\text{D}$  w tak wysokim stężeniu staje się czynnikiem stymulującym/ indukującym transkrypcję.

2) Spożycie witaminy  $\text{D}_3$  powoduje wzrost stężenia różnych metabolitów witaminy D w tym  $1,25-(\text{OH})_2\text{D}$  i  $25(\text{OH})\text{D}$ ,  $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ ;  $25,26(\text{OH})_2\text{D}$ ;  $26,23(\text{OH})_2\text{D}$ . Taka koncentracja metabolitów powoduje przekroczenie pojemności BPD i w konsekwencji uwalnianie wolnej witaminy  $\text{D}_3 - 1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , która w nadmiarze trafia do komórek docelowych.

Działanie nieklasyczne witaminy D poprzez regulatorowy udział w prawidłowej funkcji narządów, w których obecne są VDR, mechanizm jądrowego oddziaływania i

transkrypcji, wpłynęło na postrzeganie w/w związku chemicznego jako aktywnego biologicznie hormonu o plejotropowym działaniu. Przedstawiona wszechstronność działania witaminy D pozwala uznać ją za czynnik znamienne wpływający na nasze zdrowie i jakość życia.

## **2. Cel pracy**

1. Określenie stanu zabezpieczenia w witaminę D<sub>3</sub> populacji dzieci w wieku od 1 miesiąca do 36 miesiąca życia, zamieszkujących miasto Poznań, poprzez oznaczenie stężenia 25(OH)D w surowicy.
2. Analiza wpływu wybranych czynników na stężenie 25(OH)D w surowicy, w badanej grupie dzieci:
  - sposób żywienia
  - ekspozycja na światło słoneczne
  - stosowanie protekcji/ SPF
  - usłonecznienie w mieście Poznaniu
  - suplementacja witaminy D
    - w czasie ciąży
    - w czasie laktacji
    - suplementowanie dzieci

## **3. Pacjenci, materiał i metody badań**

Badaniem objęto 200 dzieci w wieku od 1 do 36 miesiąca życia (mediana -12 miesięcy), w tym 85 dziewczynek i 115 chłopców, zamieszkałych na terenie miasta Poznania i hospitalizowanych w Oddziale Dzieci Młodszych Specjalistycznego Zespołu Opieki



Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Poznaniu, w okresie 12 miesięcy tj. od 01.08.2015 do 31.07.2016 (tab.5). Liczba i wiek dzieci włączonych do badania wynikały ze struktury bieżących przyjęć do Oddziału. Przyczyny przyjęć do Szpitala były różne i ze względów merytorycznych nie prowadzono na potrzeby badania wyboru chorych, innego niż wiek i miejsce zamieszkania.

Rodzice wszystkich dzieci wyrazili zgodę na udział w badaniu, otrzymując pełną informację o jego zakresie i celach oraz wnioskach z niego wypływających. Przy przyjęciu do Szpitala i po zapoznaniu Rodziców z prowadzonym badaniem, poza badaniami wynikającymi z choroby dziecka, u każdego z zakwalifikowanych pacjentów oznaczano w surowicy krwi:

- stężenie 25(OH)D metodą immunoenzymatyczną
- aktywność fosfatazy alkalicznej
- stężenie wapnia całkowitego/ zjonizowanego w surowicy krwi
- stężenie fosforu całkowitego w surowicy krwi

Następnie rodzic lub opiekun prawny dziecka udzielili odpowiedzi na pytania zamieszczone w ankiecie, dostarczając istotnych informacji o czynnikach wpływających na zabezpieczenie dziecka w witaminę D (wzór ankiety w aneksie).

Badaniem objęte zostały dzieci hospitalizowane w Oddziale Dzieci Młodszych Specjalistycznego Zespołu Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Poznaniu, pełniące stały ostry dyżur dla miasta Poznania, spełniające :

- a) kryterium wieku ( $> 1$  m.ż. ;  $< 36$  m.ż.)
- b) kryterium przypadkowości - włączane średnio co 3-cie hospitalizowane dziecko
- c) kryterium zamieszkania- adres zamieszkania w mieście Poznaniu, określany kodem pocztowym właściwym dla miejsca zamieszkania.

Kryteria wyłączenia z badania, na podstawie danych z wywiadu:

1. przewlekłe choroby nerek

2. zdefiniowane zaburzenia gospodarki Ca- P

3. przewlekłe choroby wątroby

Opiekunowie badanych dzieci odpowiedzieli na pytania zawarte w ankiecie, celem uzyskania danych dotyczących:

a) sposobu żywienia dzieci

b) wielkości dawki witaminy D<sub>3</sub> i czasu prowadzenia suplementacji u dzieci

c) występowania czynników potencjalnie wpływających na stan zabezpieczenia w witaminę D.

Projekt uzyskał zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im.Karola Marcinkowskiego w Poznaniu ( decyzja nr 638/15).

### 3.1. Charakterystyka uczestników badania

Do badania włączono 200 dzieci w wieku 1m.ż.- 36 m.ż.(tab.5 i 6).

Tabela 5: Wiek i liczba dzieci włączonych do badania

Wiek dzieci w dniu przyjęcia do Szpitala	Liczba dzieci w danej grupie wiekowej
<12 miesiąca życia	105
12- 24 miesiąc życia	64
24- 36 miesiąc życia	31

Tabela 6: Charakterystyka wiekowa uczestników badania w poszczególnych miesiącach w okresie 01.08.2015- 31.07.2016.

Rok	miesiąc	Wiek dzieci	Ilość dzieci
2015	sierpień	< 12 miesiąca życia	18
		12- 24 miesiąc życia	12
		24- 36 miesiąc życia	2
		mediana wieku	11m-cy
	wrzesień	< 12 miesiąca życia	8
		12- 24 miesiąc życia	8
		24- 36 miesiąc życia	3
		mediana wieku	16m-cy
	październik	< 12 miesiąca życia	10
		12- 24 miesiąc życia	5
		24- 36 miesiąc życia	3
		mediana wieku	11m-cy

Rok	miesiąc	Wiek dzieci	Ilość dzieci	
	<b>listopad</b>	< 12 miesiąca życia	<b>8</b>	
		12- 24 miesiąca życia	8	
		24- 36 miesiąca życia	4	
		mediana wieku	14m-cy	
	<b>grudzień</b>	< 12 miesiąca życia	<b>8</b>	
		12- 24 miesiąca życia	0	
		24- 36 miesiąca życia	3	
		mediana wieku	7m-cy	
Rok	miesiąc	Wiek dzieci	Ilość dzieci	
<b>2016</b>	<b>styczeń</b>	< 12 miesiąca życia	<b>11</b>	
		12- 24 miesiąca życia	5	
		24- 36 miesiąca życia	1	
		mediana wieku	10m-cy	
		<b>luty</b>	< 12 miesiąca życia	<b>9</b>
		12- 24 miesiąca życia	2	
		24- 36 miesiąca życia	2	
		mediana wieku	7m-cy	
		<b>marzec</b>	< 12 miesiąca życia	<b>6</b>
			12- 24 miesiąca życia	3
			24- 36 miesiąca życia	0
			mediana	6m-cy
		<b>kwiecień</b>	< 12 miesiąca życia	<b>7</b>
		12- 24 miesiąca życia	6	
		24- 36 miesiąca życia	7	
		mediana wieku	19m-cy	
	<b>maj</b>	< 12 miesiąca życia	<b>5</b>	
		12- 24 miesiąca życia	5	
		24- 36 miesiąca życia	0	
		mediana wieku	11,5m-ca	
	<b>czerwiec</b>	< 12 miesiąca życia	<b>8</b>	
		12- 24 miesiąca życia	6	
		24- 36 miesiąca życia	5	
		mediana wieku	18m-cy	
	<b>lipiec</b>	< 12 miesiąca życia	<b>7</b>	
		12- 24 miesiąca życia	4	
		24- 36 miesiąca życia	1	
		mediana wieku	12m-cy	

Kwalifikowane do badania były dzieci niezależnie od sposobu karmienia (karmione zarówno pokarmem naturalnym, jak i mieszankami mlekozastępczymi czy w sposób mieszany) (tab.7).

Tabela 7: Charakterystyka uczestników badania w grupach wiekowych w zależności od sposobu żywienia.

Wiek dzieci włączonych do badania	Karmione piersią	Karmione mieszane	Karmione mlekiem modyfikowanym
< 12 miesięcy życia	36	29	40
12- 24 miesięcy życia	11	13	40
24- 36 miesięcy życia	4	2	25

Również niezależnie od płci następowało włączenie do badania. Nie stosowano parytetów płci. Liczbę dzieci danej płci determinowały ostre przyjęcia do Oddziału oraz dodatkowo zastosowane kryterium przypadkowości (tab.8).

Tabela 8. Charakterystyka dzieci włączonych do badania w zależności od płci

Płeć dziecka	Dziewczynki	Chłopcy
Liczba dzieci	84	116

### 3.2. Zakres przeprowadzanych badań

U wszystkich dzieci zakwalifikowanych do badania w ramach rutynowych badań wykonywanych przy przyjęciu oznaczano dodatkowo z tej samej próbki krwi:

1. stężenie metabolitu witaminy D3- 25(OH)D
2. stężenie wapnia całkowitego i zjonizowanego
3. stężenie fosforu
4. aktywność fosfatazy alkalicznej

Oznaczenie 25(OH)D wykonywane było w Laboratorium DIAGNOSTYKA Sp. z o.o., które obsługuje Specjalistyczny Zespół Opieki Zdrowotnej nad Matką i Dzieckiem w Poznaniu.

Oznaczenie stężenia 25(OH)D wykonywano przy użyciu testu LIAISON 25OH Vitamin D (produkt firmy DiaSorin) tj. technologią wykorzystującą chemiluminescencyjne testy immunologiczne (CLIA), służące do ilościowej analizy 25(OH)D w ludzkiej surowicy i osoczu. W teście tym podczas pierwszej inkubacji 25-hydroksy witamina D jest oddzielana od białka wiążącego i wiąże się z przeciwciałem na fazie stałej. Po 10 minutach zostaje dodany znacznik (witamina D związana z pochodną izoluminolu). Po 10 minutach kolejnej inkubacji

niezwiązany materiał jest usuwany w cyklu płukania. Następnie dodawane są odczynniki inicjujące, które zapoczątkowują błyskawiczną reakcję chemiluminescencyjną. Sygnał świetlny jest mierzony przy użyciu fotopowielacza w relatywnych jednostkach świetlnych (RLU). Jest on odwrotnie proporcjonalny do stężenia 25(OH)D obecnej w kalibratorach, preparatach kontrolnych i próbkach. Test do oznaczania całkowitego stężenia 25OHD podawanego w jednostkach ng/ml, obejmuje zakres 4,0- 150,00 ng/ml, przy czułości użytkowej testu wynoszącej < 4ng/ml. Poprawność testu zweryfikowano przy użyciu testów z rozcieńczeniem oraz odzyskiem, wyniki przedstawiono jako regresję liniową wartości oczekiwanych i uzyskanych, wykazując zakres próbek 3,8- 151ng/ml i średni odzysk równy 93%.

Swoistość testu wykazano poprzez określenie reaktywności krzyżowej metabolitów witaminy D:

25- hydroksy witamina D2	100% reaktywności krzyżowej
25- hydroksy witamina D3	100% reaktywności krzyżowej
1,25(OH)2 D3	9,3%
3-epi 25-hydroksywitamina D3	1,3%

Oznaczenia można dokonywać w surowicy krwi lub osoczu pobranym na EDTA oraz osoczu z dodatkiem heparyny litowej. Ze względu na średnie odchylenia o 22% wyników uzyskiwanych z osocza EDTA vs z surowicy krwi zdecydowałam o wykonywaniu oznaczeń wyłącznie z surowicy krwi pacjenta.

Producent zaleca następujący zakres referencyjnych stężeń 25(OH)D w surowicy:

**< 10 ng/ml** - niedobór witaminy D<sub>3</sub>

**10- 30 ng/ml** - niewystarczający poziom witaminy D<sub>3</sub>

**30- 100 ng/ml** – wystarczający poziom witaminy D<sub>3</sub>

**> 100 ng/ml** – toksyczność witaminy D<sub>3</sub>

W oparciu o piśmiennictwo [100] dla potrzeb prowadzonego badania przyjęto następujące zakresy stężeń określające status witaminy D<sub>3</sub>:

**< 20 ng/ml** – niedobór witaminy D<sub>3</sub>

**20- 30 ng/ml** – niewystarczający poziom witaminy D<sub>3</sub>

**30-100ng/ml** – wystarczający poziom witaminy D<sub>3</sub>

**> 120ng/ml** – zatrucie witaminą D<sub>3</sub> [100,101].

W ankiecie będącej integralną częścią badania uzyskano następujące informacje od rodziców dzieci, dotyczące czynników mogących w sposób istotny modyfikować stężenie 25(OH)D:

- czas trwania ciąży/ ilość kolejnych ciąż
- sposób karmienia dziecka
- stosowanie suplementacji
  - u dziecka
  - u matki w czasie ciąży i laktacji
- zwiększone dostarczanie Ca i P w diecie ( jakość wody)
- badanie zwyczajów codziennych mających wpływ na ekspozycję na UVB m.in.:  
spacery, ekspozycja na słońce, stosowanie filtrów przeciwsłonecznych.

Poddano również analizie usłonecznienie tj. ilość godzin słonecznych w mieście Poznaniu w okresie czterech pór roku obejmujących czas prowadzonego badania. Definiowane jest ono jako liczba godzin słonecznych w określonym czasie, czas podany w godzinach podczas którego na powierzchnię Ziemi padają bezpośrednio promienie słoneczne. Parametr ten opisuje głównie warunki pogodowe bez dostarczenia informacji o energii promieniowania, ani o jego składzie widmowym. Zastosowano w analizie parametr usłonecznienia rzeczywistego tj. rzeczywistej sumy godzin słonecznych w ciągu doby, która zależna jest od długości dnia, stopnia zakrycia horyzontu i wielkości zachmurzenia ogólnego. Dane meteorologiczne uzyskano z opublikowanych szczegółowych informacji Instytutu

Meteorologii i Gospodarki Wodnej Państwowego Instytutu Badawczego w Warszawie oraz informacji opublikowanych przez Port Lotniczy "Ławica" w Poznaniu.

W odniesieniu do każdego dziecka dokonano analizy w/w czynników i określenia statusu witaminy D<sub>3</sub>, jako wypadkowej powyższych.

Zgodnie z założeniem pracy w przypadkach stwierdzenia niedoboru witaminy D<sub>3</sub> zalecano odpowiednie postępowanie terapeutyczne:

- krótkotrwałe zwiększenie dawki suplementacyjnej
- 3 miesięczne podawanie dawki terapeutycznej.

### **3.3. Analiza statystyczna**

W poniższej pracy przyjęto wskaźnik zaufania równy 95%.

Różnice statystyczne między stężeniami 25(OH)D w badanych grupach pacjentów obliczano używając testu Kruskala- Wallisa dla statystyk nieparametrycznych do porównania wielu grup niezależnych oraz testu Spearmana do określenia współczynnika korelacji rang w badaniu związku między dwiema zmiennymi. Istotność statystyczna wyliczana była przy zastosowaniu testu Pearsa- Chi<sup>2</sup>. Poziom istotności p ustanowiony został poniżej 0,05.

Analiza statystyczna była przeprowadzona przy użyciu oprogramowania STATISTICA 13.3 ( StatSoft Inc.)

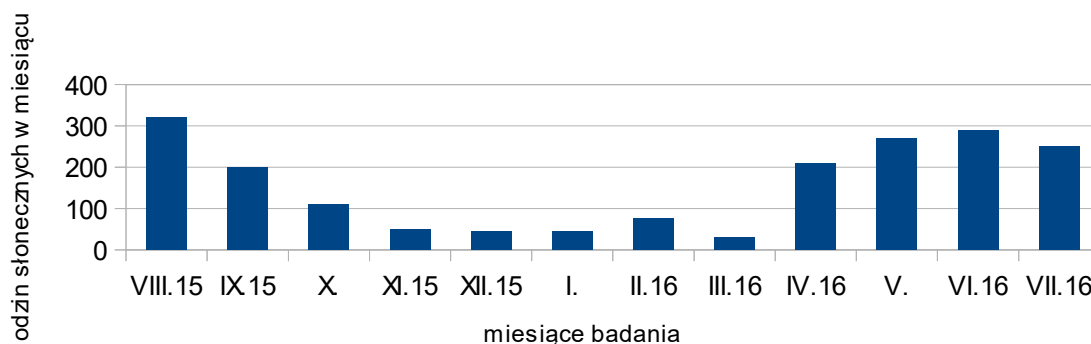
## **4. Wyniki badań**

### **4.1. Usłonecznienie**

Usłonecznienie uznano za jeden z czynników mogących mieć istotny wpływ na stężenie 25(OH)D w surowicy badanych dzieci. Stopień usłonecznienia w okresie prowadzenia badań nie odbiegał w znamienny sposób od usłonecznienia w latach sąsiadujących z czasem prowadzenia badania (tabela 9, ryc.7).

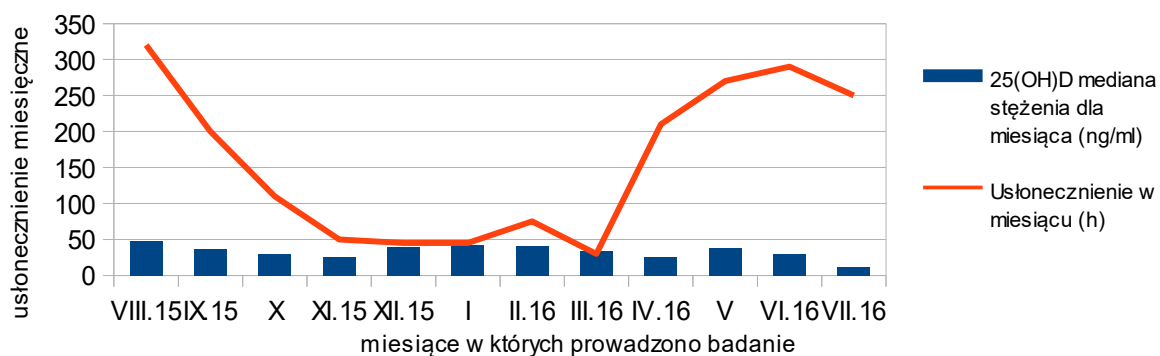
Tabela 9: Średnie usłonecznienie w mieście Poznaniu w latach 2014- 2017

Rok	Średnie usłonecznienie miesięczne w godzinach				
	Roczne	Zima	Wiosna	Lato	Jesień
2014	1850	220	570	810	330
2015	2050	170	650	860	370
2016	1850	170	530	775	350
2017	1850	190	550	775	270



Ryc. 7. Usłonecznienie w mieście Poznaniu w okresie od 01.08.2015 do 31.07.2016 roku, przedstawione jako ilość godzin słonecznych w miesiącu.

Promieniowanie słoneczne odpowiedzialne za syntezę endogennej witaminy D3 analizowano w poszczególnych miesiącach w odniesieniu do mediany 25(OH)D wszystkich oznaczeń w danym okresie czasu, niezależnie od grupy wiekowej i sposobu karmienia( Ryc.8, tab.10).



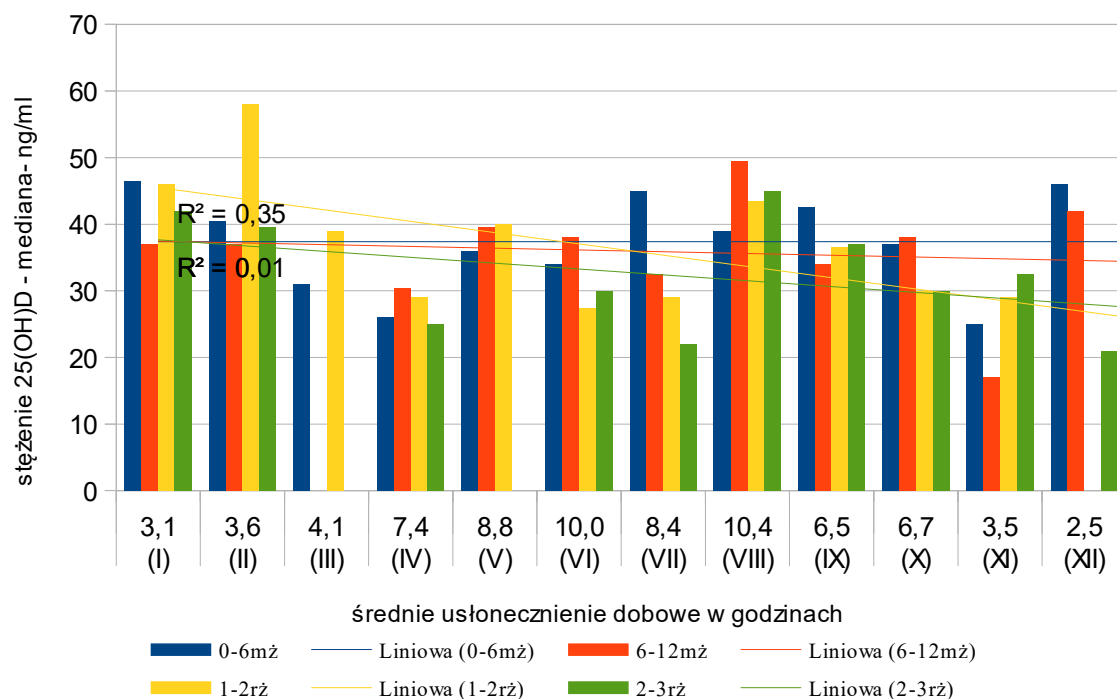
Ryc.8. Relacja usłonecznienia miesięcznego do mediany stężenia 25(OH)D w całej grupie badanej.

Wykres przedstawiający zależność mediany stężenia 25(OH)D i usłonecznienia w każdymz miesiącu badania tj. od 01.08.15 do 31.07.16.



Tabela 10: Stężenia 25(OH)D w kolejnych miesiącach i grupach wiekowych w zależności od uświetnienia miesięcznego

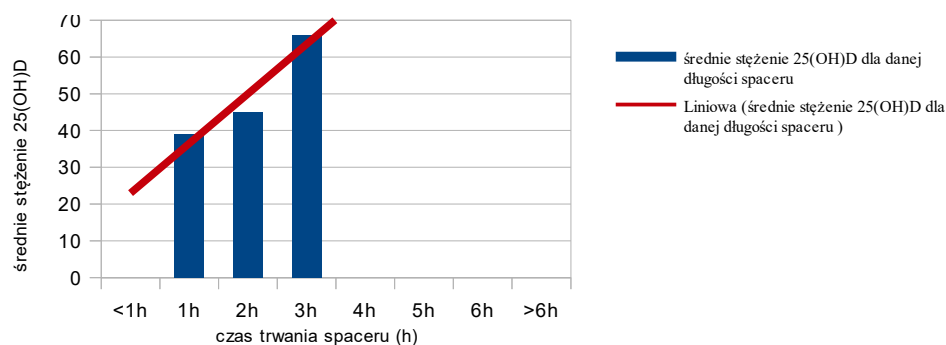
Miesiąc	Uświetnienie dobowe w godzinach	Mediana stężenia 25(OH)D – ng/ml			
		0-6 m.ż.	6-12m.ż.	12- 24m.ż.	24- 36m.ż.,
styczeń	3,1	46,5	37	46	42
luty	3,6	40,5	37	58	39,5
marzec	4,1	31	-	39	-
kwiecień	7,4	26	30,5	29	25
maj	8,8	36	39,5	40	-
czerwiec	10	34	38	27,5	30
lipiec	8,4	45	32,5	29	22
sierpień	10,4	39	49,5	43,5	45
wrzesień	6,5	42,5	34	36,5	37
październik	6,7	37	38	30	30
listopad	3,5	25	17	29	32,5
grudzień	2,5	46	42	-	21



Ryc. 9. Stężenie 25(OH)D w zależności od uświetnienia dobowego w poszczególnych grupach wiekowych

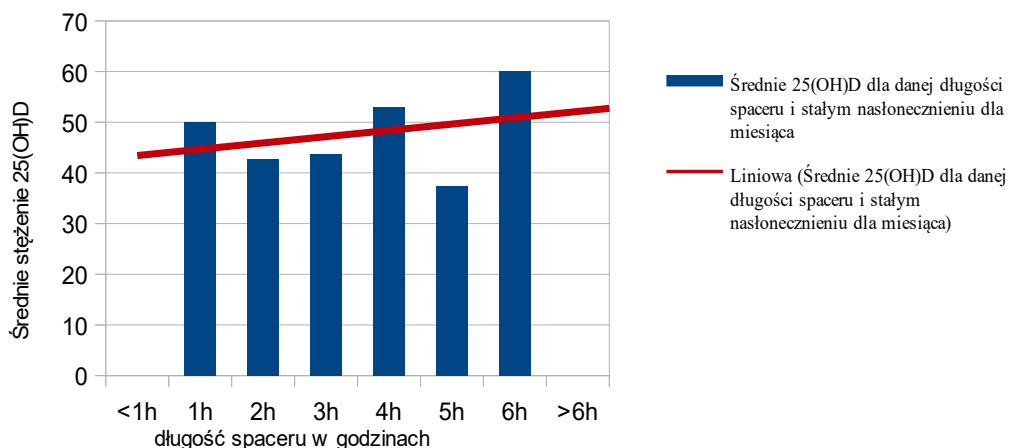
Graficzna analiza mediany stężeń 25(OH)D i średniej uświetnienia dobowego w poszczególnych miesiącach badania, dla wyznaczonych grup wiekowych. Wykres z zastosowaniem zależności liniowej.

Krzywa regresji dla 25(OH)D na przestrzeni całego roku dla grup wiekowych 0-6m.ż. oraz 6-12m.ż. wykazuje trend stały niezależny od średniego usłonecznienia dobowego w poszczególnych miesiącach. Zatem stopień usłonecznienia dobowego czy miesięcznego nie wpływa na wartość stężenia 25(OH)D przy aktualnie stosowanym zabezpieczeniu niemowląt przed bezpośrednią ekspozycją na promieniowanie słoneczne. Natomiast dla grup wiekowych 12-24 m.ż. oraz 24-36 m.ż. wykazano wyraźny trend spadkowy stężenia 25(OH)D w miesiącach X-XII istotny statystycznie ( $p=0,0345$ ), po wyraźnym wzroście stężenia 25(OH)D w miesiącach o wysokim wskaźniku usłonecznienia tj. VIII i bezpośrednio po nim następującym IX. Ponadto wykazano istotny statystycznie ( $p= 0,0345$ ) wzrost mediany stężeń 25(OH)D w letnich miesiącach w grupie wiekowej 0- 6m.ż (tab.10, ryc.9).



Ryc.10. Relacja średniego stężenia 25(OH)D w całej grupie badanej do długości ekspozycji na UVB w marcu  
Relacja 25(OH)D i długości ekspozycji na UVB pośrednio wyrażonej w długości spaceru (h) w miesiącu o najniższym sumarycznym usłonecznieniu w ciągu całego badania. Wykazano pozytywną korelację między tymi parametrami.

Poddano również analizie wielkość ekspozycji na promieniowanie UVB, która zależna jest usłonecznienia w danym miesiącu oraz czasu trwania powyższej ekspozycji tj. długości spaceru. Analizę przeprowadzono w dwóch skrajnych miesiącach: o najniższym i o najwyższym usłonecznieniu w trakcie badania (ryc.10, ryc.11).



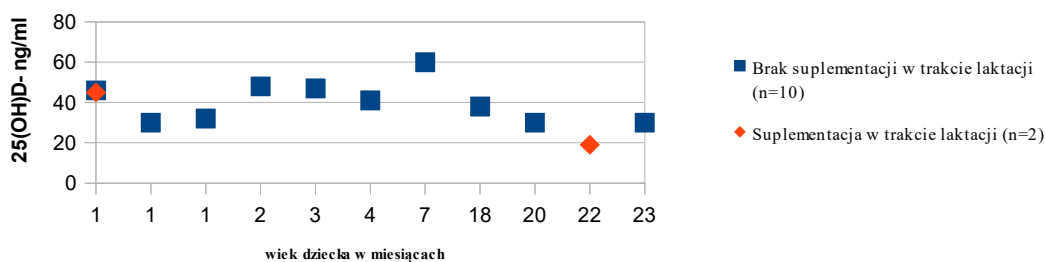
Ryc. 11 Relacja stężenia 25(OH)D w całej grupie badanej do długości ekspozycji na UVB w sierpniu 2015r.

Relacja średniego stężenia 25(OH)D i długości ekspozycji na UVB pośrednio wyrażonej w długości spaceru (h) w miesiącu o najwyższym sumarycznym nasłonecznieniu w ciągu całego badania. Przy stałym nasłonecznieniu wykazano pozytywną korelację obu parametrów lecz bez istotności statystycznej ( $p > 0,05$ ).

Powyższe wykresy, przy stałej wartości usłonecznienia w danym miesiącu, wskazują na istotny wpływ ( $p < 0,05$ ) długości spaceru na stężenie 25(OH)D w miesiącach o mniejszym wskaźniku usłonecznienia i zdecydowanie mniejszy (bez istotności statystycznej,  $p > 0,05$ ) wpływ długości spaceru na stężenie 25(OH)D w miesiącach o wysokim wskaźniku usłonecznienia.

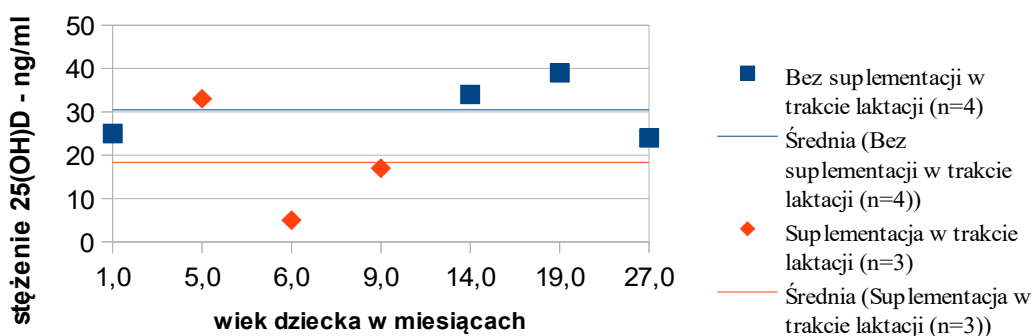
#### 4.2. Suplementacja w trakcie ciąży i laktacji

Dane o stosowanej suplementacji w trakcie trwania laktacji uzyskiwano z ankiety wypełnianej przez opiekunów dziecka. W momencie włączenia do badania 47 dzieci było wyłącznie karmionych piersią. Spośród karmiących piersią matek dzieci włączonych do badania, stosowanie suplementacji witaminy D3 w trakcie laktacji deklarowało 16 osób co stanowi 34,04% wszystkich. W grupach wiekowych o najwyższym wskaźniku karmienia naturalnego stanowiły one odpowiednio: 0-6 m.ż. - 24,53% i 6-12m.ż. - 24,44%.



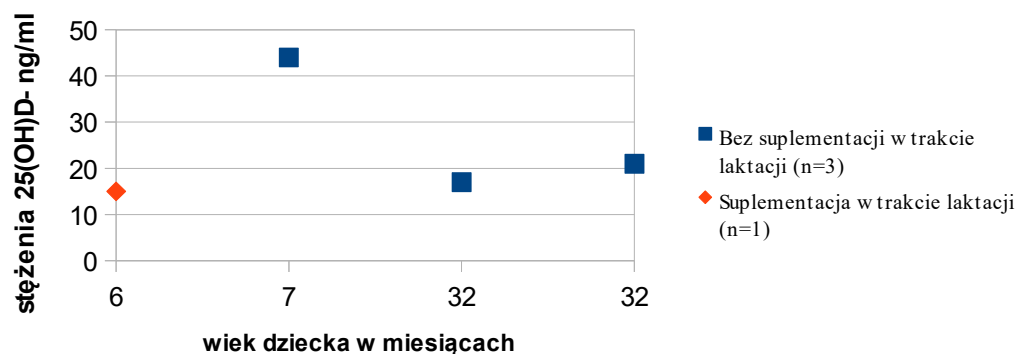
Ryc. 12. Suplementacja matki w trakcie laktacji a zabezpieczenie dziecka w witaminę D.  
Opracowana na podstawie danych z miesiąca sierpnie 2015r. analiza stężenia 25(OH)D u dzieci karmionych piersią (n=12) w wieku od 1 do 23m.ż. w zależności od stosowania suplementacji witaminy D przez matkę podczas laktacji. Suplementację deklarowały tylko 2 matki. Wyniki badań nie wykazały wpływu suplementacji u matki karmiącej na stężenie 25(OH)D u dziecka, aczkolwiek grupa ta była mała.

Powyżej przedstawiono analizę z sierpnia 2015r., miesiąca o najwyższym udziale karmionych naturalnie, a przy tym o najwyższym usłonecznieniu w trakcie trwania badania (320h/miesiąc). Ze względu na niewielką grupę (n=2) badanych, u których Matki deklarowały suplementację witaminy D3 w trakcie laktacji, w stosunku do tych niesuplementowanych (n=10) nie można było wiarygodnie ustalić istotności statystycznej różnic między grupami (ryc.12). Kolejne analizowane miesiące to listopad i grudzień, o porównywalnie niskim usłonecznieniu wahającym się między 45 a 50h/ miesiąc. Wyboru dokonano celowo, aby wyeliminować wpływ usłonecznienia na stężenie 25(OH)D jako czynnika dodatkowego (ryc.13, 14).



Ryc. 13. Suplementacja witaminy D u matki w trakcie laktacji a zabezpieczenie dziecka w witaminę D

Opracowana na podstawie danych z miesiąca listopada 2015r. analiza stężenia 25(OH)D u dzieci karmionych piersią (n=7) w wieku od 1 do 27m.ż. w zależności od stosowania suplementacji witaminy D przez matkę podczas laktacji. Suplementację deklarowały 3 matki. Wyniki badań nie wykazały wpływu suplementacji u matki karmiącej na stężenie 25(OH)D u dziecka. Różnice między grupą suplementowaną i niesuplementowaną bez istotności statystycznej ( $p>0,05$ ).



Ryc.14 Suplementacja witaminy D u matki w trakcie laktacji a zabezpieczenie dziecka w witaminę

Opracowana na podstawie danych z miesiąca grudnia 2015r. analiza stężenia 25(OH)D u dzieci karmionych piersią (n=4) w wieku od 1 do 32m.ż. w zależności od stosowania suplementacji witaminy D przez matkę podczas laktacji. Suplementację deklarowała 1 matka. Wyniki badań nie wykazały wpływu suplementacji u matki karmiącej na stężenie 25(OH)D u dziecka. Różnice między grupą suplementowaną i niesuplementowaną bez istotności statystycznej ( $p>0,05$ ).

U niemowląt (0-12 m.ż.) karmionych piersią wykazano deficyt witaminy D3 niezależnie od stosowania suplementacji przez matki karmiące. Różnice pomiędzy grupami nie wykazały istotności statystycznej ( $p>0,05$ ).

Tabela 11 . Odsetek niemowląt karmionych naturalnie w grupach wiekowych 1-6m.ż. i 6-12m.ż., u których stwierdzono deficyt witaminy D3 ( $25(OH)D < 20ng/ml$ ), w zależności od suplementacji witaminy przez matki w trakcie laktacji.

	1- 6 m.ż.	6- 12m.ż.
	% grupy badanej	% grupy badanej
suplementacja	7,69	27,27
bez suplementacji	2,5	8,82

W analizie statystycznej nie wykazano korelacji między brakiem suplementacji u matki karmiącej, a występowaniem deficytu witaminy D3 ( $25(OH)D < 20ng/ml$ ) u dzieci w grupie wiekowej 1-6m.ż. ( $p= 0,4627$ ), jak i w grupie wiekowej 6-12m.ż. ( $p=0,13395$ ).

Określenie stężenia 25(OH)D u niemowląt < 6m.ż przy deklarowanej suplementacji witaminy D3 w trakcie laktacji, wykazało:

- stężenie <20ng/ml u 7,69% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały suplementację witaminy D w czasie laktacji

- stężenie 20-30ng/ml u 30,77% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały suplementację witaminy D w czasie laktacji
- stężenie > 30ng/ml u 61,54% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały suplementację witaminy D w czasie laktacji

Wśród badanych w grupie 1-6m.ż., których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D3 w trakcie laktacji ( 75,47% wśród niemowląt w wieku 1- 6m.ż.), wykazano:

- stężenie <20ng/ml u 2,5% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji
- stężenie 20-30ng/ml u 20% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji
- stężenie > 30ng/ml u 77,5% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji

Podobnie w grupie wiekowej 6- 12 m.ż. wykazano wartości 25(OH)D wśród dzieci, których matki stosowały suplementację w czasie laktacji:

- stężenie < 20ng/ml u 27,27% badanych których matki deklarowały stosowanie suplementacji w czasie laktacji
- stężenie 20-30ng/ml u 27,27% badanych których matki deklarowały stosowanie suplementacji w czasie laktacji
- stężenie > 30ng/ml u 45,45% badanych których matki deklarowały stosowanie suplementacji w czasie laktacji

U niemowląt w grupie wiekowej 6- 12 m.ż., których matki zadeklarowały brak suplementacji witaminy D3 w trakcie laktacji, wykazano stężenia 25(OH)D :

< 20ng/ml u 8,82% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji

< 30ng/ml u 14,71% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji

>30ng/ml u 76,47% badanych z grupy dzieci których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie laktacji

Dane ankietowe pozwoliły również na przeprowadzenie analizy wpływu suplementacji witaminy D3 w czasie trwania ciąży na wartości stężeń u dzieci. W oparciu o dane z piśmiennictwa analiza taka wydaje się być zasadna jedynie w grupie dzieci do 6 miesiąca życia, niezależnie od aktualnego sposobu żywienia [69]. Suplementację w czasie ciąży deklarowało spośród badanych 36,68% respondentów. Badaniu poddano właśnie grupę wiekową do 6 miesiąca życia spełniającą warunek deklarowanej suplementacji w trakcie ciąży (w różnych jej okresach oraz różnych dawkach deklarowanych), bez uwzględniania sposobów żywienia, uzyskując wyniki stężenia 25(OH)D:

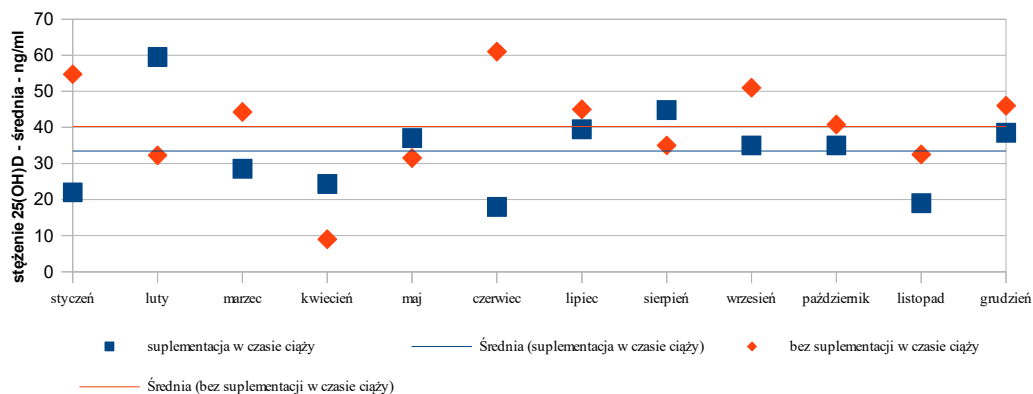
- < 20ng/ml u 21,74% niemowląt, których matki deklarowały stosowanie suplementacji witaminy D w czasie ciąży, co stanowi 7,81% całej grupy wiekowej niezależnie od stosowanej suplementacji w trakcie ciąży
- 20-30ng/ml u 17,39% niemowląt, których matki deklarowały stosowanie suplementacji witaminy D w czasie ciąży, co stanowi 6,25% całej grupy wiekowej niezależnie od stosowania suplementacji w trakcie ciąży
- >30ng/ml u 60,87% niemowląt, których matki deklarowały stosowanie suplementacji witaminy D w czasie ciąży, co stanowi 21,88% całej grupy wiekowej niezależnie od stosowanej suplementacji w trakcie ciąży

Natomiast w grupie deklarującej brak suplementacji witaminy D3 w trakcie ciąży, stanowiącej 64,06% badanych, wykazano iż stężenia 25(OH)D u badanych dzieci prezentują się następująco:

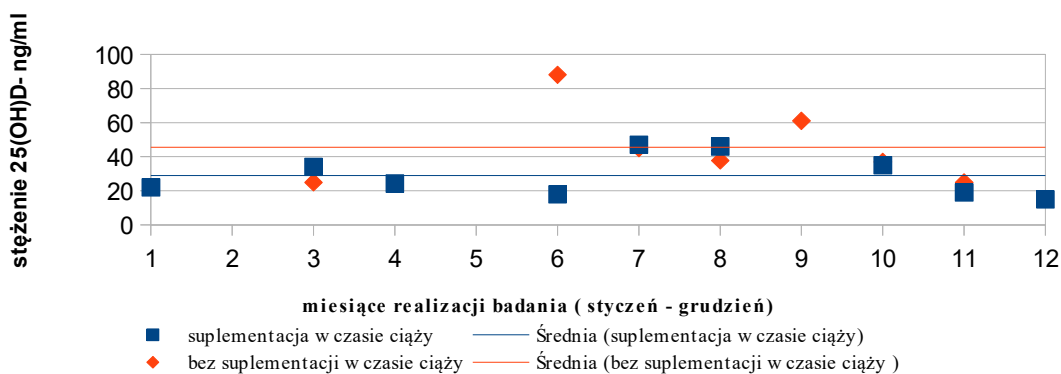
- < 20ng/ml u 2,44% niemowląt w wieku 1-6m.ż., których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie ciąży
- 20-30ng/ml u 29,27% niemowląt w wieku 1-6m.ż., których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie ciąży
- >30ng/ml u 68,29% niemowląt w wieku 1-6m.ż., których matki deklarowały brak stosowania suplementacji witaminy D w czasie ciąży

Wykazano w tejże analizie istotność statystyczną ( $p= 0,03322$ ) różnic stężeń 25(OH)D w grupie niemowląt < 6m.ż., między grupą stosującą a niestosującą suplementację w czasie ciąży. Przy czym istotna korelacja dotyczyła braku suplementacji w czasie ciąży i częstości występowania stężenia 25(OH)D w wartościach 20-30ng/ml. Stężenia deficytowe (< 20ng/ml) nie wykazują istotnej statystycznie korelacji z brakiem stosowania lub stosowaniem suplementacji witaminy D3 w czasie ciąży (ryc.15). W analizie o szerszym zakresie wiekowym (cała grupa badana,  $n=200$ , 1-36m.ż.) fakt stosowania suplementacji w czasie ciąży nie odgrywa istotnej statystycznie roli ( $p=0,21878$ ). Poniżej przedstawiono analizę grupy niemowląt < 6 miesięcy życia, których matki deklarowały stosowanie suplementacji witaminy D w czasie ciąży, niezależnie od ich sposobu żywienia (ryc.15). Następnie tę samą grupę badanych poddano analizie w zależności od sposobu żywienia tj. karmienie naturalne vs karmienie modyfikowanymi mieszankami mlecznymi (ryc. 16, 17). Na podstawie analizowanych danych nie wykazano istotnej statystycznie różnicy w stężeniach 25(OH)D w grupie niemowląt 1-6 m.ż., których matki stosowały suplementację witaminy D3 w czasie ciąży w stosunku do niemowląt w tej samej grupie wiekowej, których matki nie stosowały suplementacji witaminy D3 w czasie ciąży.

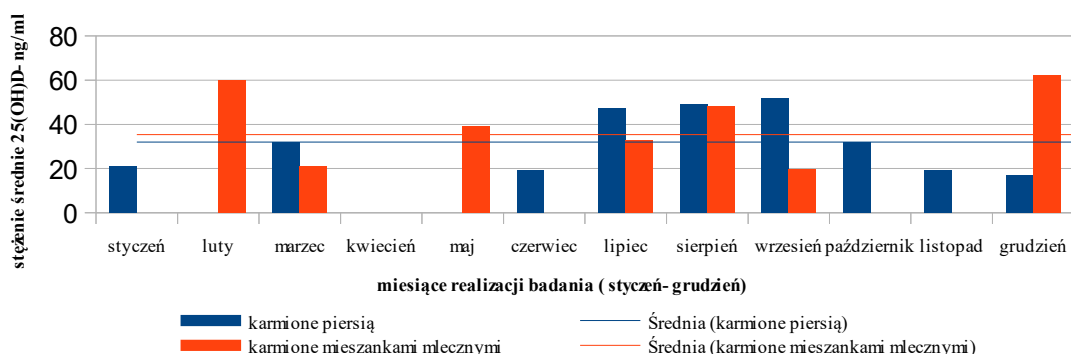




Ryc. 15 Wpływ suplementacji witaminy D w czasie ciąży na stężenie 25(OH)D u niemowląt <6 m.ż.  
 Analizie poddano dzieci (n=24) <6m.ż. w chwili badania, niezależnie od sposobu żywienia, których matki deklarowały stosowanie suplementacji w czasie ciąży. Różnica między grupą stosującą suplementację (n=12), a grupą niestosującą suplementacji (n=12) w czasie ciąży nie wykazała istotności statystycznej.



Ryc.16 Wpływ suplementacji witaminy D3 w czasie ciąży na stężenie 25(OH)D u niemowląt karmionych piersią  
 Analiza stężenia 25(OH)D u niemowląt <6m.ż. karmionych piersią w zależności od stosowanej suplementacji witaminy D w czasie ciąży. Analiza dotyczy 12 miesięcy badania. W analizie tej nie wykazano dodatniej korelacji między stosowaniem suplementacji w czasie ciąży a stężeniem 25(OH)D u dziecka karmionego piersią.



Ryc.17 Wpływ suplementacji witaminy D3 w czasie ciąży na stężenie 25(OH)D u dzieci w zależności od sposobu karmienia.

Analiza dotyczy stężeń 25(OH)D u niemowląt <6m.ż. karmionych naturalnie vs karmionych mieszankami modyfikowanymi, których matki deklarowały suplementowanie witaminy D3 w czasie ciąży.

Nie wykazano również istotnego wpływu suplementacji witaminy D3 w czasie ciąży na stężenie 25(OH)D u dzieci karmionych piersią w pierwszych 6 miesiącach życia. Wartości średnich stężeń 25(OH)D u niemowląt karmionych naturalnie i karmionych mieszankami modyfikowanymi utrzymywały się w wartościach  $> 30\text{ng/ml}$ .

### 4.3. Wyniki stężenia 25(OH)D w grupach wiekowych.

Poddano analizie uzyskane wartości stężenia 25(OH)D w zależności od wieku badanego dziecka. Mając na względzie odmienność pierwszego półrocza życia, z dominującym karmieniem piersią w tym czasie, wyodrębniono grupę 1- 6 m.ż. jako odrębną (n= 64).

W analizie wiekowej stężeń 25(OH)D uzyskano wyniki zakresowe (tabela 12):

- 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$  wykazano u 15 badanych łącznie z wszystkich grup wiekowych, co stanowi 7,5% całej grupy badanej (n=200), natomiast w grupach wiekowych prezentuje się to następująco:
  - 1-6m.ż. - 6,25% danej grupy wiekowej
  - 6-12m.ż. - 4,88% danej grupy wiekowej
  - 12-24m.ż. - 10,94% danej grupy wiekowej
  - 24-36m.ż. - 6,45% danej grupy wiekowej

Natomiast analiza wiekowa w grupie, w której stwierdzano stężenia 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$  wykazała:

- 1-6m.ż – 26,67% wszystkich dzieci z 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$
- 6-12m.ż. - 13,33% wszystkich dzieci z 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$
- 12- 24m.ż. - 46,67% wszystkich dzieci z 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$
- 24- 36m.ż.- 13,33% wszystkich dzieci z 25(OH)D  $< 20\text{ng/ml}$

Stężenie 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml stwierdzono u 56 badanych z wszystkich grup wiekowych łącznie, co stanowi 28% całej grupy badanej. Natomiast w poszczególnych grupach wiekowych suboptymalne stężenie 25(OH)D prezentowało:

- 1-6m.ż – 26,56% dzieci z danej grupy wiekowej
- 6-12m.ż. - 10,71% dzieci z danej grupy wiekowej
- 12- 24m.ż. - 32,14% dzieci z danej grupy wiekowej
- 24- 36m.ż.- 26,78% dzieci z danej grupy wiekowej

Analiza wiekowa w grupie z oznaczonym stężeniem 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml (n=56) wykazała:

- 1-6m.ż – 26,67% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml
- 6-12m.ż. - 13,33% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml
- 12- 24m.ż. - 46,67% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml
- 24- 36m.ż.- 13,33% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml

Stężenie 25(OH)D > 30ng/ml stwierdzono u 127 badanych co stanowi 63,5% całej grupy badanej tj. z wszystkich grup wiekowych łącznie. Natomiast w poszczególnych grupach wiekowych optymalne stężenie 25(OH)D prezentowało:

- 1-6m.ż – 67,19% dzieci z danej grupy wiekowej
- 6-12m.ż. - 80,49% dzieci z danej grupy wiekowej
- 12- 24m.ż. - 57,81% dzieci z danej grupy wiekowej
- 24- 36m.ż.- 45,16% dzieci z danej grupy wiekowej

Analiza wiekowa grupy z optymalnym stężeniem 25(OH)D (n=127) wykazuje:

- 1-6m.ż – 33,86% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie >30ng/ml
- 6-12m.ż. - 25,98% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie >30ng/ml
- 12- 24m.ż. - 29,13% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie >30ng/ml
- 24- 36m.ż.- 11,02% wszystkich dzieci z 25(OH)D w zakresie >30ng/ml

Tabela 12. Zakresy stężenia 25(OH)D ( niedobór, suboptymalne, optymalne) w poszczególnych grupach wiekowych.

Grupa wiekowa	Ilość dzieci w grupie w zależności od stężenia 25(OH)D		
	< 20 ng/ml (% grupy)	20- 30ng/ml (% grupy)	> 30ng/ml (% grupy)
1- 6 m.ż. (n=64)	4 (6,25%)	17 (26,56%)	43 (67,19%)
6- 12 m.ż. (n=41)	2 (4,88%)	6 (14,63%)	33 (80,49%)
12- 24 m.ż. (n=64)	7 (10,94%)	18 (28,125%)	37 (57,8125%)
24- 36 m.ż. (n=31)	2 (6,45%)	15 (48,39%)	14 (45,16%)

Uzyskane wyniki wskazują, iż stopień optymalnego zabezpieczenia w witaminę D3 maleje wraz z wiekiem badanych i najwyższy odsetek dzieci ze stężeniem 25(OH)D <30ng/ml jest w grupie dzieci w wieku 24-36m.ż.(p=0,054). W grupie wiekowej 6-12 m.ż. wykazano najwyższy tj.80,49% odsetek dzieci z optymalnym stężeniem witaminy D.

Różnice między grupami wiekowymi nie wykazują istotności statystycznej (p= 0,41) w grupie ze stwierdzanym deficytem witaminy D.

#### 4.4.Stężenie 25(OH)D u dzieci z grupy badanej w różnych porach roku

Dane z literatury wskazują na istotne zależności stężenia witaminy D3 od pory roku [ ].

Mając to na względzie poddano analizie uzyskane wyniki badań w zależności od pory roku, w której były oznaczane tj. zima (XII, I, II), wiosna (III,IV, V), lato (VI, VII, VIII), jesień (IX,X, XI) .

##### 4.4.1. Zima

Tabela 13. Stężenia 25(OH)D oznaczone w grudniu u dzieci w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
1- 6 m.ż. (n=4)	15- 62 ng/ml	42,25 ng/ml	46 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=4)	17- 53 ng/ml	38,5 ng/ml	42 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=0)	-	-	-
2- 3 r.ż. (n=3)	17- 32 ng/ml	23,33 ng/ml	21 ng/ml

W grudniu na podstawie oznaczonego u badanych stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (<20ng/ml)- u 3 badanych = 27,27%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml)- u 2 badanych = 18,18%

- wystarczające stężenie D3 (> 30ng/ml)- u 6 badanych = 54,54%

Tabela 14. Stężenia 25(OH)D oznaczone w styczniu u dzieci w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=6)	22- 65 ng/ml	47,166 ng/ml	46,5 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=5)	28 – 89 ng/ml	50,4 ng/ml	37 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=5)	15- 51 ng/ml	38,6 ng/ml	46 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=1)	42 ng/ml	42 ng/ml	42 ng/ml

W styczniu na podstawie oznaczonego u badanych stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (< 20 ng/ml) – 1 badany = 5,88%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 3 badanych = 17,65%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 13 badanych = 76,47%

Tabela 15. Stężenia 25(OH)D oznaczone w lutym u dzieci w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=6)	18- 73,0 ng/ml	41,33 ng/ml	40,5 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=3)	36- 44,0 ng/ml	39,0 ng/ml	37,0 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=2)	52- 64,0 ng/ml	58,0 ng/ml	58,0 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=2)	21- 58,0 ng/ml	39,5 ng/ml	39,5 ng/ml

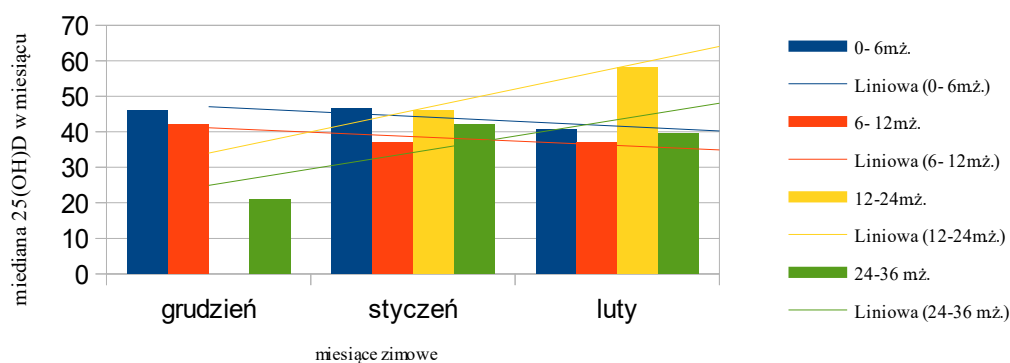
W lutym na podstawie oznaczonego u badanych stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (< 20ng/ml) – 1 badany = 7,69%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 2 badanych = 15,38%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 10 badanych = 76,92%.

W okresie zimowym we wszystkich grupach wiekowych generalnie wartości stężenia 25(OH)D mieściły się w rekomendowanych wartościach wystarczających do prawidłowego zabezpieczenia w witaminę D3 tj.>30ng/ml (ryc.18, 19). Jedyne w grudniu w grupie dzieci 2-3 rok życia wykazano u dwojga zakwalifikowanych niewystarczające stężenie 25(OH)D – 17,0 i 21,0ng/ml, wynikające z nałożenia kilku czynników:

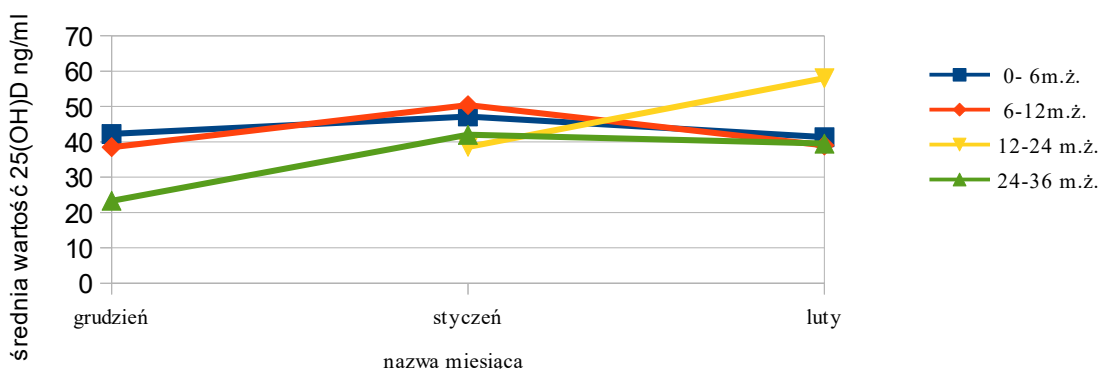
przedłużone karmienie piersią

- brak suplementacji witaminy D po 2 roku życia u jednego z dzieci i niedostateczna suplementacja (400IU/dobę u dziecka karmionego naturalnie) u drugiego z badanych
- krótkotrwałe spacerowanie (15 minut- 1 godziny).



Ryc. 18. Porównanie mediany 25(OH)D w miesiącach zimowych w poszczególnych grupach wiekowych

Graficzna interpretacja porównania mediany 25(OH)D w poszczególnych grupach wiekowych w kolejnych miesiącach zimowych tj. grudzień, styczeń, luty. Wykazane różnice mediany dla danych grup wiekowych nie są statystycznie istotne.

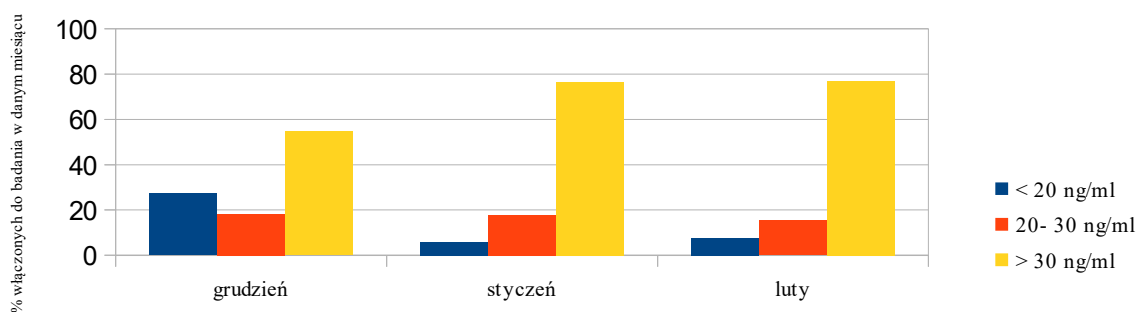


Ryc. 19 Porównanie średnich stężeń 25(OH)D w miesiącach zimowych zależnie od wieku

U obojga dzieci rodzice relacjonowali wystąpienie objawów niedoboru witaminy D3, w których zastosowano interwencję w postaci zwiększenia jej dawki.

U jednego dziecka w grupie 1-6 miesiąca życia stwierdzono deficyt witaminy D3.

Brak ewidentnych deficytów witaminy D<sub>3</sub> w miesiącach zimowych przy niewielkim usłonecznieniu, w pozostałych grupach wydaje się wynikać z regularnego stosowania suplementacji tej witaminy (ryc.20).



Ryc. 20 Porównanie odsetkowe dzieci z niedostatecznym, suboptymalnym i optymalnym stężeniem 25(OH)D w miesiącach zimowych

#### 4.4.2. Wiosna

Tabela 16. Stężenia 25 (OH)D oznaczone w marcu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=6)	22- 66,0 ng/ml	39,0 ng/ml	31,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=0)	-	-	-
12-24 m.ż. (n=3)	33- 56,0 ng/ml	42,66 ng/ml	39,0 ng/ml
24-36 m.ż. (n=0)	-	-	-

W marcu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D<sub>3</sub> (< 20ng/ml) – 0 badanych = 0%
- niewystarczające stężenie D<sub>3</sub> ( 20- 30 ng/ml) – 3 badanych = 33,3(3)%
- wystarczające stężenie D<sub>3</sub> (> 30 ng/ml) – 6 badanych = 66,6(6)%

Tabela 17. Stężenia 25(OH)D oznaczone w kwietniu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=3)	17- 30,0 ng/ml	24,33 ng/ml	26,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=4)	24- 42,0 ng/ml	31,75 ng/ml	30,5 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=6)	18- 53,0 ng/ml	31,33 ng/ml	29,0 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=7)	19- 41,0 ng/ml	27, 12 ng/ml	25,0 ng/ml

W kwietniu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

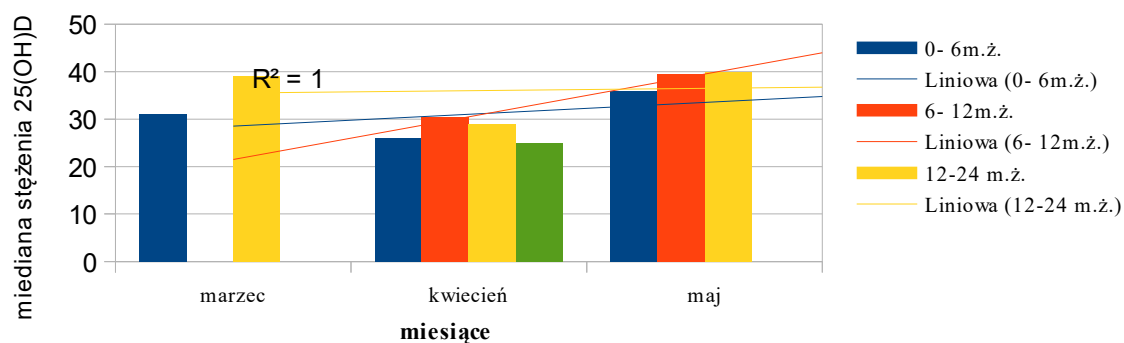
- niedobór witaminy D3 (< 20ng/ml) – 4 badanych = 20%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 8 badanych = 40%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 8 badanych = 40%

Tabela 18. Stężenia 25(OH)D oznaczone w maju w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=3)	27- 37,0 ng/ml	33,33 ng/ml	36,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=2)	33- 46,0 ng/ml	39,5 ng/ml	39,5 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=5)	8- 46,0 ng/ml	34,8 ng/ml	40,0 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=0)	-	-	-

W maju na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (< 20 ng/ml) – 1 badany = 10%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 1 badany = 10%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 8 badanych = 80%



Ryc. 21. Porównanie mediany 25(OH)D dla danej grupy wiekowej w miesiącach wiosennych

W porównaniu z zastosowaniem regresji liniowej wykazano trend wzrostowy mediany 25(OH)D w grupie wiekowej 6-12mż w analizowanych miesiącach wiosennych. Pozostałe grupy wiekowej bez istotnych statystycznie różnic w stężeniach 25(OH)D.

W miesiącach wiosennych (III- V) wraz z rosnącym usłonecznieniem w mieście Poznaniu odnotowano jedynie delikatnie zaznaczony trend wzrostowy mediany 25(OH)D w poszczególnych grupach wiekowych w kolejnych miesiącach. Trend ten najwyraźniej widoczny jest w grupie wiekowej 6- 12 miesiąca życia. Trudne, a praktycznie niemożliwe,



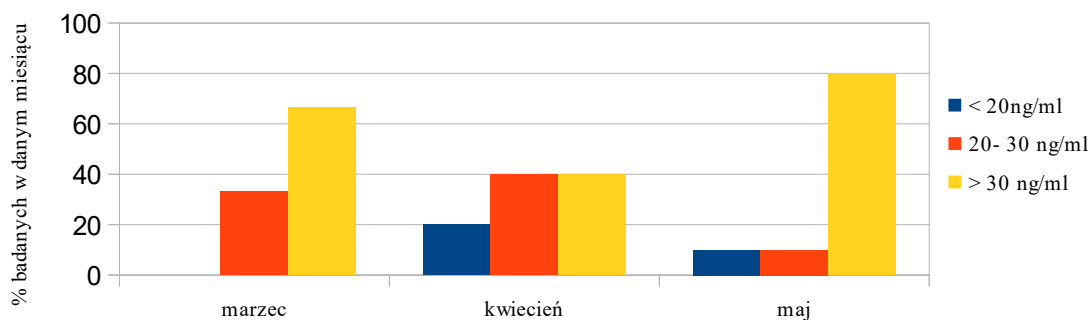
jest poddanie analizie trendu grupy > 2 roku życia, gdyż w tej grupie wiekowej tylko w kwietniu włączone zostały dzieci do badania. Grupa ta zwraca uwagę medianą stężenia 25(OH)D < 30ng/ml, co w analizie ankietowej zdaje się znajdować wytłumaczenie:

- karmienie mlekiem krowim
- brak suplementacji witaminy D po 2 roku życia
- niedostateczna suplementacja witaminy D w 2-im roku życia.

Długość spacerów w tej grupie wiekowej zdaje się nie mieć istotnego wpływu na wartości stężenia 25(OH)D- u wszystkich badanych deklarowano porównywalną długość (1h-3h) i częstotliwość (codziennie) spacerów.

Najbardziej wyrównaną wydaje się być grupa dzieci w wieku 1-2 rok życia. Aczkolwiek wartości mediany 25(OH)D <30ng/ml w kwietniu wynikają najprawdopodobniej z niedostatecznej suplementacji witaminy D3 tj. podaż jedynie 400IU/dobę przy zastosowaniu suplementów diety a nie wyrobów medycznych. U jednego z badanych w związku z prezentowanymi objawami niedoboru witaminy D3 lekarz rodzinny zalecił zwiększenie dawki do 1000IU/dobę, a mimo to oznaczenie stężenia 25(OH)D nadal wskazywało na niedostateczne zabezpieczenie organizmu w tę witaminę ( 18ng/ml).

W grupie 0-6 miesiąca życia również w kwietniu odnotowano wartości 25(OH)D równe i mniejsze niż 30ng/ml. Dane z ankiety wykazały jednolity sposób karmienia ( naturalny) i suplementowania (400j/d) oraz ekspozycji na światło słoneczne ( deklarowane codzienne spaceru 1-2h). Nie znaleziono chorobowych aspektów mogących tłumaczyć powyższą sytuację. Mając na względzie niższą ilość godzin słonecznych w kwietniu niż w sąsiadujących miesiącach, można wyciągnąć wniosek o potencjalnie istotnym wpływie usłonecznienia na stężenie 25(OH)D.



Ryc. 22. Porównanie odsetkowe dzieci z niedoborem, suboptymalnym i optymalnym stężeniem 25(OH)D w miesiącach wiosennych, niezależnie od wieku badanych.

#### 4.4.3. Lato

Tabela 19. Stężenia 25(OH)D oznaczone w czerwcu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=3)	18- 88,0 ng/ml	46,66 ng/ml	34,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=5)	28- 46,0 ng/ml	38,4 ng/ml	38,0 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=6)	23- 47,0 ng/ml	30,33 ng/ml	27,5 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=5)	25- 37,0 ng/ml	30,5 ng/ml	30,0 ng/ml

W czerwcu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (< 20ng/ml) – 1 badany = 5,26%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 9 badanych = 47,37%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 9 badanych = 47,37%

Tabela 20.: Stężenia 25(OH)D oznaczone w lipcu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=3)	32- 47,0 ng/ml	41,33 ng/ml	45,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=4)	21- 54,0 ng/ml	35,0 ng/ml	32,5 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=4)	17- 43,0 ng/ml	29,5 ng/ml	29,0 ng/ml
2-3 r.ż. (n=1)	22,0 ng/ml	22,0 ng/ml	22,0 ng/ml

W lipcu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (<20 ng/ml) – 1 badany = 8,33%

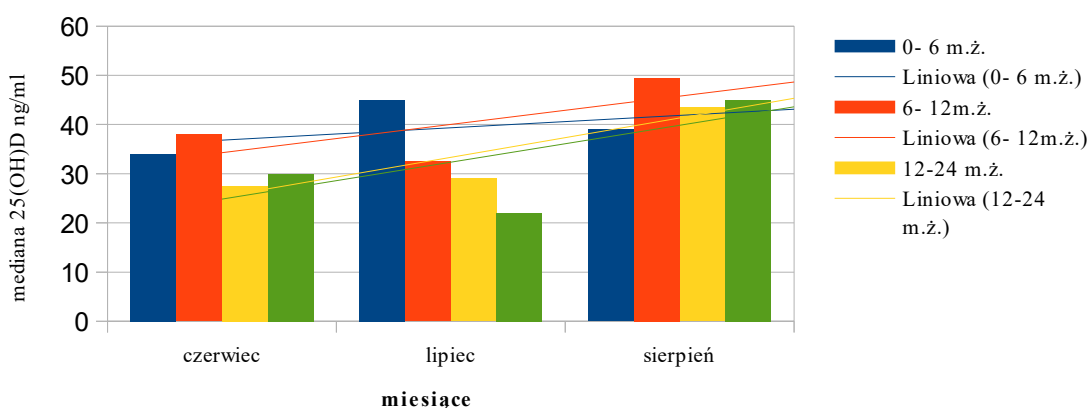
- niewystarczające stężenie D3 ( 20- 30 ng/ml) – 4 badanych = 33,33%
- wystarczające stężenie D3 (> 30 ng/ml) – 7 badanych = 58,33%

Tabela 21: Stężenia 25(OH)D oznaczone w sierpniu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=11)	27- 56,0 ng/ml	39,45 ng/ml	39,0 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=7)	46- 72,0 ng/ml	53,43 ng/ml	49,5 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=13)	19- 71,0 ng/ml	43,17 ng/ml	43,5 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=2)	33- 57,0 ng/ml	45,0 ng/ml	45,0 ng/ml

W sierpniu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (< 20ng/ml) – 1 badany = 3,125%
- niewystarczające stężenie D3 (20- 30 ng/ml) – 5 badanych = 15,625%
- wystarczające stężenie D3 (> 30ng/ml) – 26 badanych = 81,25%



Ryc. 23. Porównanie mediany 25(OH)D w miesiącach letnich w grupach wiekowych

Analiza mediany 25(OH)D w miesiącach letnich ( czerwiec, lipiec, sierpień) w poszczególnych grupach wiekowych. Zastosowane krzywe regresji liniowej wskazują na zmienną tendencję wzrostową we wszystkich grupach wiekowych poza niemowlętami < 6 m.ż.

W miesiącach letnich we wszystkich grupach wiekowych odnotowano znamienny trend wzrostowy wartości stężenia 25(OH)D, przy czym krzywa regresji w grupie 0- 6 m.ż. wykazała najmniejsze odchylenie (ryc.22). Wartości < 30ng/ml odnotowano w grupie 1- 2 r.ż. oraz 2-3r.ż. Po analizie powyższych grup ustalono, iż u w/w nie stosowano suplementacji witaminy D po ukończeniu 1 roku życia. Pozostałe dane ankietowe nie różniły się w sposób

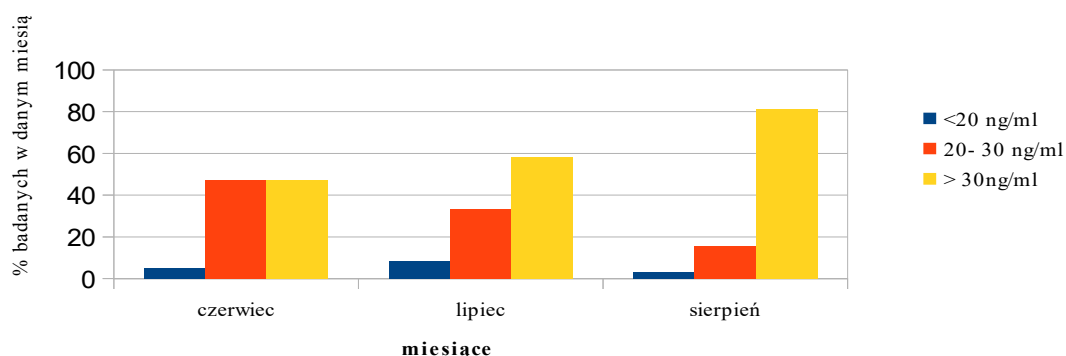
istotny w zakresie danych: sposób żywienia, ekspozycja na światło słoneczne, długość spacerów.

Mediana stężenia 25(OH)D w miesiącach letnich w poszczególnych grupach wiekowych, w stosunku do miesięcy wiosennych, była :

- 0- 6 miesiąc życia – wyższa o 25%
- 6-12 miesiąc życia – niższa o 7,15%
- 1- 2 rok życia – niższa o 25%
- 2- 3 rok życia – wyższa o 20%

Analiza danych ankietowych wykazała zaprzestanie suplementacji witaminy D po ukończeniu 1 roku życia u większości badanych, poza jednym przypadkiem gdzie nadal była podawana witamina D3 w dawce 400IU/dobę. U tego dziecka jako jedyne w badanej grupie wiekowej 2- 3 r.ż. wartość stężenia 25(OH)D przekraczała 30ng/ml w słonecznym lipcu.

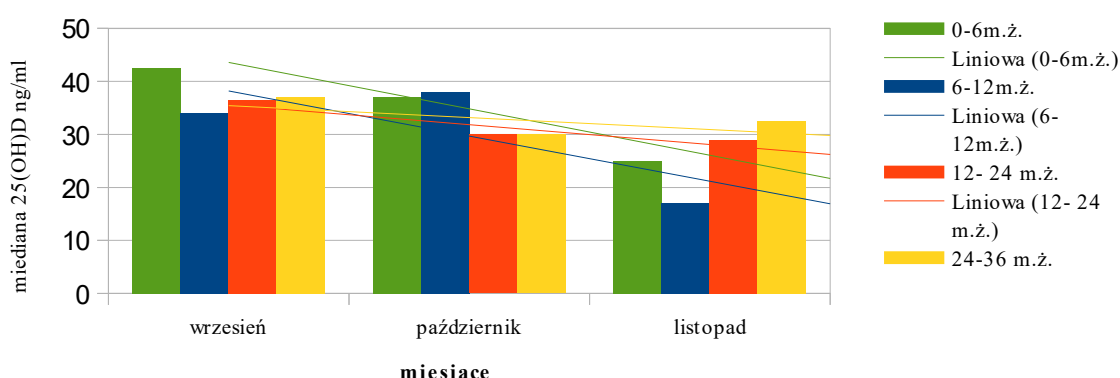
Długotrwałe wysokie uśonecznienie z potencjalnie długim przebywaniem na zewnątrz (ekspozycja na UVB) dało odpowiedź w postaci wzrostu zarówno wartości średniej, jak i mediany 25(OH)D we wszystkich grupach wiekowych dopiero w sierpniu. Przy czym wzrost ten był notowany niezależnie od sposobu żywienia czy stosowania suplementacji witaminy D ( ryc.23).



Ryc. 24 Porównanie odsetkowe dzieci z niedoborem witaminy D, suboptimalnym i optymalnym stężeniem 25(OH)D w miesiącach letnich

#### 4.4.4. Jesień

W miesiącach jesiennych obserwowano we wrześniu i październiku utrzymywanie się wysokich stężeń 25(OH)D we wszystkich badanych grupach wiekowych, a dopiero w listopadzie zauważalny był spadek wartości mediany stężeń 25(OH)D. Krzywa trendów wyraźnie spadkowa w dwóch pierwszych grupach wiekowych. W pozostałych dwóch grupach trend spadkowy mniej dynamiczny, mimo iż tylko w 50% przypadków stosowano suplementację witaminy D3 (ryc. 25).



Ryc. 25 Porównanie mediany 25(OH)D w miesiącach jesiennych w poszczególnych grupach wiekowych  
 Analiza porównawcza mediany stężeń 25(OH)D w analizowanych grupach wiekowych w 3 miesiącach jesiennych. Zastosowanie krzywej regresji liniowej wykazuje zmienną tendencję spadkową mediany w październiku i listopadzie u najmłodszych dzieci tj. w grupie 0-6m.ż. i 6-12m.ż. U dzieci w 2 i 3 roku życia regresja bez istotnych statystycznie spadków.

Tabela 22. Stężenia 25(OH)D oznaczone we wrześniu w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=5)	19- 61 ng/ml	44,6 ng/ml	42,5 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=3)	33- 38 ng/ml	35,5 ng/ml	34 ng/ml
1- 2 r.ż. (n=8)	18- 51 ng/ml	46 ng/ml	36,5 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=3)	24- 49 ng/ml	36,66 ng/ml	37 ng/ml

We wrześniu na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

- niedobór witaminy D3 (<20ng/ml) – 2 badanych = 10,52%
- niewystarczające stężenie D3 ( 20- 30 ng/ml) – 2 badanych = 10,52%
- wystarczające stężenie D3 ( > 30ng/ml) – 15 badanych = 78,95% (ryc.25).

Tabela 23. Stężenia 25(OH)D oznaczone w październiku w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=7)	21- 66 ng/ml	38 ng/ml	37 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=3)	36- 44 ng/ml	39,33 ng/ml	38 ng/ml
1-2 r.ż. (n=5)	28- 45 ng/ml	32,6 ng/ml	30 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=3)	21- 43 ng/ml	31,33 ng/ml	30 ng/ml

W październiku na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

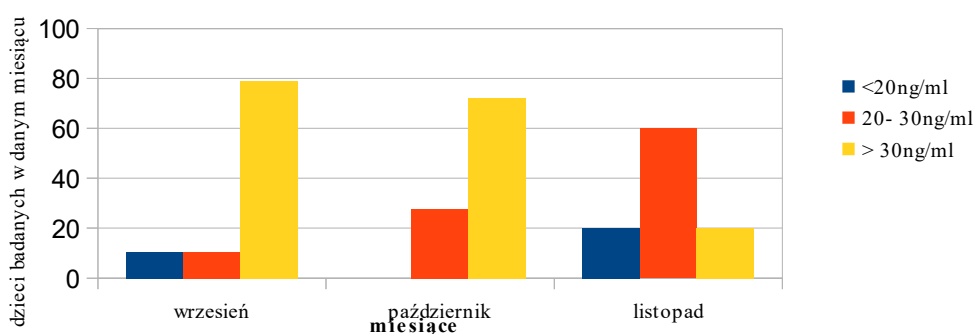
- niedobór witaminy D3 (< 20ng/ml) – 0 badanych
- niewystarczające stężenie D3 ( 20- 30 ng/ml) – 5 badanych = 27,7(7)%
- wystarczające stężenie D3 (> 30ng/ml) – 13 badanych = 72,2(2)% (ryc.25)

Tabela 24. Stężenia 25(OH)D oznaczone w listopadzie w grupach wiekowych

Wiek	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
0- 6 m.ż. (n=7)	5- 52 ng/ml	28,71 ng/ml	25 ng/ml
6- 12 m.ż. (n=1)	17 ng/ml	17 ng/ml	17 ng/ml
1- 2 r.żn. (n=8)	13- 42 ng/ml	29,75 ng/ml	29 ng/ml
2- 3 r.ż. (n=4)	24- 52 ng/ml	35,25 ng/ml	32,5 ng/ml

W listopadzie na podstawie oznaczonego stężenia 25(OH)D stwierdzono:

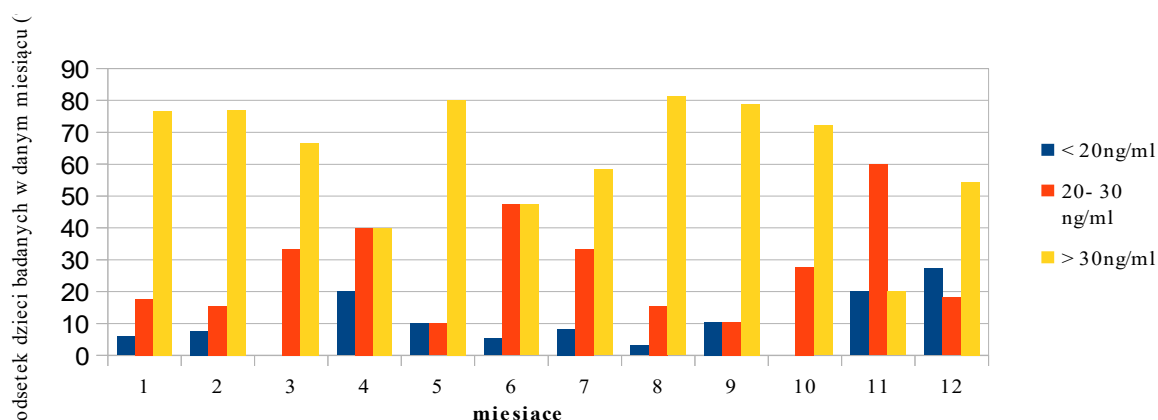
- niedobór witaminy D3 (<20 ng/ml) u 4 badanych = 20% dzieci
- niewystarczające stężenie D3 ( 20- 30 ng/ml) u 12 badanych = 60% dzieci
- wystarczające stężenie D3 (> 30ng/ml) u 4 badanych = 20% dzieci. (ryc.26)



Ryc. 26. Porównanie odsetka dzieci z niedoborem witaminy D, suboptymalnym i optymalnym stężeniem 25(OH)D w miesiącach jesiennych

Odsetkowa analiza dzieci < 3 roku życia badanych w miesiącach jesiennych, u których stwierdzono deficyt witaminy D, stężenie suboptymalne i optymalne. Analizę przeprowadzono bez podziału na grupy wiekowe. Największy odsetek dzieci z optymalnym stężeniem 25(OH)D wykazano we wrześniu (88%) i październiku (72%).

W ujęciu całorocznym, z uwzględnieniem wszystkich czterech pór roku, wyniki przedstawiają się następująco (ryc.27):



Ryc. 27. Odsetek dzieci z niedostatecznym, suboptymalnym i optymalnym stężeniem 25(OH)D podczas rocznej obserwacji VIII.2015-VII.2016.

Graficzna prezentacja wyników badań uzyskanych w rocznej obserwacji. Wyraźnie widoczna tendencja wzrostowa odsetka dzieci ze stężeniem 25(OH)D > 30ng/ml w sierpniu, wrześniu i październiku, przy bardzo niskim odsetku dzieci z niedoborami suboptymalnym stężeniem 25(OH)D. Podobna sytuacja obserwowana jest w styczniu i lutym. Najgorzej sytuacja przedstawia się w listopadzie, gdzie odsetek dzieci ze stężeniem 25(OH)D < 30ng/ml przewyższa znacząco odsetek dzieci z optymalnym stężeniem 25(OH)D.

Analiza niedostatecznego zabezpieczenia w witaminę D3 ( 25(OH)D < 30ng/ml; tj.

sumarycznie grupa 25(OH)D<20ng/ml i 20-30ng/ml) w zależności od pory roku oraz grupy wiekowej, wykazała:

1. w grupie wiekowej 1-6 m.ż.

zima- 8,33% badanych

wiosna- 44,44% badanych

lato- 25,53% badanych

jesień- 33,33% badanych.

Niezależnie od pory roku w tej grupie wiekowej niemowląt 26,42% miało stężenie 25(OH)D <30ng/ml. Wykazano w tej grupie wiekowej korelację optymalnego stężenia 25(OH)D (>30ng/ml) w miesiącach zimowych i letnich, co należy wiązać odpowiednio z sumiennością suplementowania witaminy D3 w tej grupie wiekowej, jak i wpływem endogennej syntezy w okresie letnim.

W tej grupie wiekowej różnice w stężeniu 25(OH)D w różnych porach roku nie wykazały istotności statystycznej ( $p=0,26519$ ).

2. W grupie wiekowej 6- 12m.ż.

Zima- 30,77% badanych

wiosna- 55,56% badanych

lato- 15,3% badanych

jesień- 30% badanych.

W tej grupie wiekowej średnio u 31,11% dzieci stwierdzano stężenie 25(OH)D  $< 30\text{ng/ml}$  w ciągu roku badawczego. Korelacja między letnią porą roku i stężeniami 25(OH)D  $> 30\text{ng/ml}$  została wykazana. Niemniej różnice między porami roku dla danej grupy wiekowej nadal nie mają statusu istotnych ( $p=0,25976$ ).

3. w grupie wiekowej 12- 24 m.ż.

39,39% dzieci w tej grupie wiekowej miało niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D3 niezależnie od analizowanej pory roku. Przy czym w ujęciu sezonowym przedstawiało się to następująco:

zima- 12,5% badanych

wiosna- 30,77% badanych

lato- 45,83% badanych

jesień- 47,62% badanych

Przedstawione różnice dla grupy wiekowej w aspekcie różnic sezonowych nie wykazują istotności statystycznej ( $p= 0,27921$ ). Wykazano natomiast istotny wzrost odsetka dzieci z 25(OH)D  $> 30\text{ng/ml}$  w miesiącach letnich i jesiennych.

4. w grupie wiekowej 24- 36 m.ż. niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D w zależności od pory roku prezentowało:

zima- 50% badanych

wiosna- 71,43% badanych



lato- 50% badanych

jesień – 50% badanych (p=0,8009).

Nie wykazano korelacji między porami roku a liczbą dzieci z nieprawidłowym zabezpieczeniem w witaminę D3 w grupie wiekowej 24- 36m.ż. A wykazane różnice w poszczególnych porach roku dla tejże grupy nie były istotne statystycznie (p=0,8009).

#### **4.5. Stężenie 25(OH)D u dzieci z grupy badanej w zależności od sposobu karmienia**

Na podstawie ankiet wypełnianych przez opiekunów dzieci biorących udział w badaniu analizowano sposób karmienia, jako czynnika potencjalnie mogącego mieć wpływ na wartości stężenia 25(OH)D. Wobec powyższego wyodrębniono grupy badawcze:

- dzieci karmione piersią – 22,11% badanych
- dzieci karmione w sposób mieszany (piers + mieszanka modyfikowana lub mleko krowie)- 18,59%
- dzieci karmione mieszkami modyfikowanymi/ mlekozastępczymi – 49,25% badanych
- dzieci karmione mlekiem krowim- 3,015% badanych
- brak danych w ankiecie – 7,03% badanych.

Wśród dzieci karmionych naturalnie (zarówno karmienie wyłączone, jak i uzupełnienie diety > 1 roku życia) wartości stężenia 25(OH)D wahały w zakresie 5,0- 88,0 ng/ml. U dwojga dzieci z tej grupy stężenia 25(OH)D < 10ng/ml wskazywały na ciężki niedobór witaminy D3. Najniższe stężenie dotyczyło dziecka z rozpoznaną w trakcie hospitalizacji chorobą wątroby z jej niewydolnością. Było to 7-miesięczny chłopiec z ciąży I, porodu siłami natury w 40t.c., urodzony z masą ciała 3120g i oceną w skali Apgar 10pkt. Został on przyjęty do tutejszego Szpitala w trybie pilnym z powodu niechęci do jedzenia oraz obserwowanego niedoboru masy ciała. Dziecko karmione było głównie piersią, wg relacji mamy odmawiał

przyjmowania posiłków uzupełniających, których próby podawania indukowały wymioty. Suplementacja stosowana była w dawce 400IU/dobę, dodatkowo deklarowana w ankiecie suplementacja w czasie ciąży i podczas laktacji. Wywiad rodzinny bez obciążeń. Przy przyjęciu stan ogólny dziecka był wyrównany. Przedmiotowo stwierdzano blade powłoki skórne z nielicznymi zmianami drobnogrudkowymi, niewielkie obrzęki tkanki podskórnej w obrębie podudzi i stóp, bez cech ostrej infekcji górnych dróg oddechowych, osłuchowo płuca i serce bez patologii, brzuch miękki bez patologicznych oporów, wątroba i śledziona niepowiększone. W dniu przyjęcia masa ciała dziecka 7310g (3-15 percentyl wg WHO). W badaniach dodatkowych stwierdzono liczne nieprawidłowości:

- znamienne podwyższone aktywności transaminaz, bez enzymatycznych wykładników cholestazy
- hipoproteinemia ze znacznego stopnia hipoalbuminemią
- zaburzenia hemostazy pod postacią zaburzeń szlaku protrombinowego związanego z witaminą K (APTT- 59,6s; wskaźnik protrombinowy- 43%; INR- 2,4)
- obniżenie stężenia Cu i Fe oraz białek związanych z ich metabolizmem
- hiponatremia 135mmol/l
- hipokaliemia 3,42mmol/l
- zwiększona aktywność LDH- 358U/l (N<243 U/l)
- zwiększona aktywność CK- 590 U/l (N< 200 U/l)
- ciężki niedobór witaminy D3- 25(OH)D= 5ng/ml
- w badaniach obrazowych jamy brzusznej obniżenie echogenności mięszu wątroby odpowiadające klinicznemu obrazowi obrzęków związanych z hipoalbuminemią.

W diagnostyce różnicowej wzięto pod uwagę zakażenia wirusami hepatotropowymi, wykluczając zapalenie wątroby w przebiegu zakażenia wirusami: CMV, HBV, HCV, EBV. Celem różnicowania z enteropatią wysiękową jako przyczyną nadmiernej utraty białek,

wykonano oznaczenie  $\alpha$ -1-antytrypsyny w kale, której podwyższona wartość jest patognomoniczna dla eteropatii wysiękowej. Uzyskano wynik wykluczający w/w jednostkę chorobową. Hipertrasaminazemia z cechami niewydolności wątroby, w tym miernym podwyższeniem stężenia amoniaku i mleczanów w surowicy krwi, kazała wziąć również pod uwagę zaburzenia metaboliczne. W tym celu wykonano badanie krwi metodą TANDEM oraz moczu GCMS, które pozwoliły na wykluczenie w/w zaburzeń. Ze względu na istotne odchylenia koagulologiczne niosące za sobą ryzyko krwawień w 1-ej dobie hospitalizacji podano dożylnie preparat witaminy K, co dało szybką normalizację parametrów INR, APTT i wskaźnika protrombinowego. W kontroli po miesiącu wykazano przybór masy ciała równy 350g, normalizację parametrów białkowych, normalizację aktywności transaminaz, normalizację stężenia amoniaku i Cu. Ponadto w wyniku stosowania witaminy D3 (preparat Vigantol) w dawce 1000IU/dobę uzyskano już po miesiącu wzrost stężenia 25(OH)D do 29ng/ml. W kontroli po kolejnym miesiącu odnotowano dalszy stabilny przybór masy ciała z trwałą normalizacją paramterów wątrobowych, a co za tym idzie białkowych z dalszym acz niezadowalającym wzrostem stężenia 25(OH)D. Stąd zwiększono dawkę witaminy D3 do 2000IU. Retrospektywna analiza obrazu klinicznego w korelacji z wynikami badań pozwala na postawienie rozpoznania poważnego niedoboru witaminy D3 w przebiegu przejściowej niewydolności wątroby będącej skutkiem niedożywienia białkowo-energetycznego.

Kolejne z dzieci z ciężkim niedoborem witaminy D3 to 2-letnia dziewczynka urodzona z ciąży II, porodu II SN w 40t.c. z masą ciała 3130g i oceną w skali Apgar 10pkt, która została przyjęta w trybie pilnym z powodu braku poprawy w leczeniu ambulatoryjnym infekcji dróg oddechowych. Wywiad rodzinny obciążony alergią wziewną u obojga rodziców dziecka. Przy przyjęciu stan ogólny dziecka dość dobry. Przedmiotowo stwierdzano: podwyższoną temperaturę ciała, wyraźnie nieżytowe gardło, nieżyt nosa, brzuch miękki nieco bolesny w śródbrzuszu po stronie lewej. W badaniach dodatkowych wykładniki ostrej infekcji: podwyższone miano CRP (*C-reactive protein*), leukocytoza obwodowa w rozmazie z

przesunięciem w lewo, a także znamienne niedobór witaminy D3 – 25(OH)D równe 8ng/ml. Analiza powyższego przypadku pozwala na wysunięcie wniosków, iż obserwowany niedobór witaminy D3 indukowany był przedłużonym karmieniem piersią z zaprzestaniem suplementacji witaminy D3 po 1 roku życia dziecka, bez suplementacji w czasie ciąży i laktacji oraz z deklarowanym brakiem ekspozycji na promieniowanie słoneczne.

Poniżej przedstawiono tabelarycznie analizę statusu witaminy D3 u dzieci karmionych naturalnie, w sposób mieszany (pokarm matki + mieszanka modyfikowana/ mleko krowie) oraz karmionych mieszankami modyfikowanymi, oraz mlekiem krowim w poszczególnych miesiącach badania (tab.25-28).

*Tabela 25:* Wartości stężeń 25(OH)D w poszczególnych miesiącach badania u dzieci karmionych naturalnie

<b>Miesiąc</b>	<b>Zakres stężeń</b>	<b>Średnie stężenie</b>	<b>Mediana stężeń</b>
<b>grudzień(n=3)</b>	15- 44,0 ng/ml	25,33 ng/ml	17,0 ng/ml
<b>styczeń(n=0)</b>	-	-	-
<b>luty(n=0)</b>	-	-	-
<b>marzec(n=4)</b>	22- 39,0 ng/ml	30,75 ng/ml	31,0 ng/ml
<b>kwiecień(n=5)</b>	17- 36,0 ng/ml	26,8 ng/ml	26,0 ng/ml
<b>maj(n=2)</b>	8- 46,0 ng/ml	27,0 ng/ml	27,0 ng/ml
<b>czerwiec(n=3)</b>	18- 88,0 ng/ml	45,3 ng/ml	30,0 ng/ml
<b>lipiec(n=5)</b>	17- 47,0 ng/ml	34,6 ng/ml	42,0 ng/ml
<b>sierpień(n=11)</b>	19- 60,0 ng/ml	38,09 ng/ml	38,0 ng/ml
<b>wrzesień(n=1)</b>	61,0 ng/ml	61,0 ng/ml	61,0 ng/ml
<b>październik(n=3)</b>	35- 44,0 ng/ml	38,6 ng/ml	37,0 ng/ml
<b>listopad(n=7)</b>	5- 39,0 ng/ml	25,29 ng/ml	25,0 ng/ml

Niedobór witaminy D3 ( 25(OH)D< 20ng/ml) wśród karmionych naturalnie zależnie od przedziału wiekowego w ujęciu odstekowym przedstawia się następująco:

- 0- 6m.ż. : 9,52%
- 6- 12m.ż. : 25%.

Średnie stężenie 25(OH)D u dzieci karmionych w sposób mieszany tj. pokarm matki + mieszanka modyfikowana/ mlekozastępcza lub mleko krowie utrzymywało się przez cały rok w wartościach >30 ng/ml (Tab. 26).

U dzieci karmionych mieszankami modyfikowanymi, które standardowo wzbogacane są w witaminę D<sub>3</sub> w ilości około 8ug/ 100g suchej substancji, stwierdzono jedynie w listopadzie średnie stężenie 25(OH)D poniżej wartości zabezpieczającej tj. < 30ng/ml (Tab.27).

W badaniu uczestniczyło zaledwie sześcioro dzieci karmionych mlekiem krowim. Wszystkie dzieci z tej grupy były w wieku powyżej 18 miesiąca życia. W miesiącach jesienno-zimowych (X- IV) dzieci karmione mlekiem krowim prezentowały wartości stężeń zarówno jednostkowych, jak i średnich poniżej 30 ng/ml (tab.28). Wszystkie dzieci do czasu badania otrzymywały witaminę D<sub>3</sub> zgodnie z obowiązującymi zaleceniami.

*Tabela 26:* Wartości stężenia 25(OH)D w poszczególnych miesiącach badania u dzieci karmionych w sposób mieszany

Miesiąc	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
<b>Grudzień (n=3)</b>	17- 62,0 ng/ml	33,33 ng/ml	21,0 ng/ml
<b>Styczeń (n=4)</b>	15- 65,0 ng/ml	45,75 ng/ml	51,5 ng/ml
<b>Luty (n=4)</b>	18- 73,0 ng/ml	41,75 ng/ml	38,0 ng/ml
<b>Marzec (n=3)</b>	23- 66,0 ng/ml	50,0 ng/ml	61,0 ng/ml
<b>Kwiecień (n=0)</b>	-	-	-
<b>Maj (n=3)</b>	27- 42,0 ng/ml	35,0 ng/ml	36,0 ng/ml
<b>Czerwiec (n=3)</b>	28- 42,0 ng/ml	36,0 ng/ml	38,0 ng/ml
<b>Lipiec (n=0)</b>	-	-	-
<b>Sierpień (n=7)</b>	30- 59,0 ng/ml	43,14 ng/ml	46,0 ng/ml
<b>Wrzesień (n=5)</b>	19- 49,0 ng/ml	33,6 ng/ml	35,0 ng/ml
<b>Październik (n=3)</b>	30- 43,0 ng/ml	36,3 ng/ml	36,0 ng/ml
<b>Listopad (n=5)</b>	25- 52,0 ng/ml	42,2 ng/ml	42,0 ng/ml

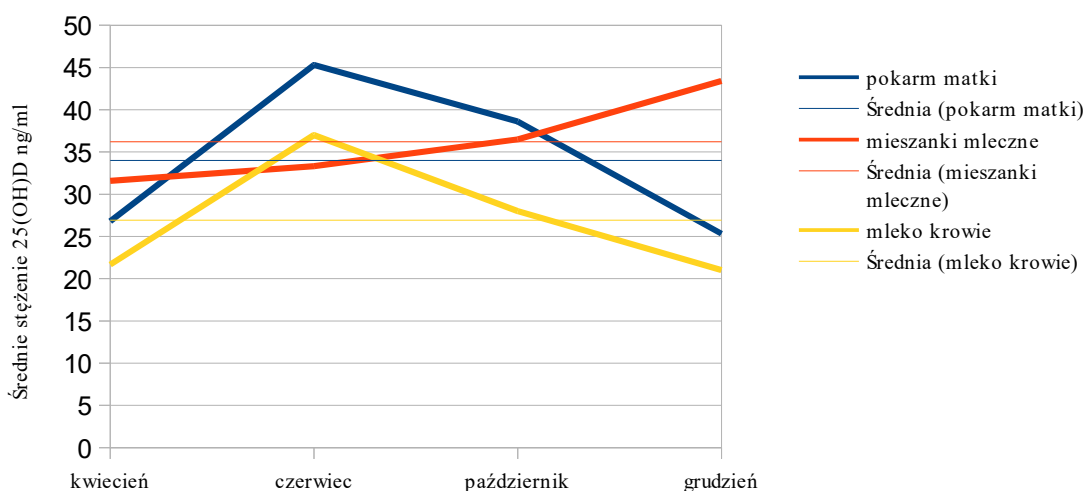
*Tabela 27:* Wartości stężenia 25(OH)D w poszczególnych miesiącach badania u dzieci karmionych mieszankami mlecznymi

Miesiąc	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
<b>Grudzień (n=5)</b>	32- 53,0 ng/ml	43,4 ng/ml	45,0 ng/ml
<b>Styczeń (n=11)</b>	28- 89,0 ng/ml	47,54 ng/ml	46,0 ng/ml

<b>Luty (n=9)</b>	21- 64,0 ng/ml	43,66 ng/ml	41,0 ng/ml
<b>Marzec (n=2)</b>	33- 56,0 ng/ml	44,5 ng/ml	44,5 ng/ml
<b>Kwiecień (n=12)</b>	18- 53,0 ng/ml	31,58 ng/ml	28,5 ng/ml
<b>Maj (n=4)</b>	37- 46,0 ng/ml	40,25 ng/ml	39,0 ng/ml
<b>Czerwiec (n=9)</b>	23- 47,0 ng/ml	33,33 ng/ml	30,0 ng/ml
<b>Lipiec (n=7)</b>	21- 54,0 ng/ml	33,0 ng/ml	32,0 ng/ml
<b>Sierpień (n=13)</b>	27- 72,0 ng/ml	49,85 ng/ml	49,0 ng/ml
<b>Wrzesień (n=10)</b>	18- 58,0 ng/ml	39,7 ng/ml	39,0 ng/ml
<b>Październik (n=9)</b>	21- 66,0 ng/ml	36,5 ng/ml	37,0 ng/ml
<b>Listopad (n=7)</b>	21- 39,0 ng/ml	28,0 ng/ml	24,0 ng/ml

Tabela 28: Wartości stężenia 25(OH)D w poszczególnych miesiącach badania u dzieci karmionych mlekiem krowim

Miesiąc	Zakres stężeń	Średnie stężenie	Mediana stężeń
<b>Grudzień (n=1)</b>	21,0 ng/ml	21,0 ng/ml	21,0 ng/ml
<b>Kwiecień (n=3)</b>	19- 26,0 ng/ml	21,66 ng/ml	20,0 ng/ml
<b>Czerwiec (n=1)</b>	37,0 ng/ml	37,0 ng/ml	37,0 ng/ml
<b>Październik (n=1)</b>	28,0 ng/ml	28,0 ng/ml	28,0 ng/ml



Ryc. 28 Porównanie średnich stężeń 25(OH)D u wszystkich dzieci badanych w zależności od sposobu karmienia

Porównawcza analiza stężeń 25(OH)D u dzieci karmionych piersią, mieszankami modyfikowanymi i mlekiem krowim. Ograniczenie analizy do czterech miesięcy determinowane było uczestnictwem dzieci karmionych mlekiem krowim. Wyraźnie widoczne utrzymywanie się średniej 25(OH)D < 30ng/ml u dzieci karmionych mlekiem krowim. Różnica między średnimi dla dzieci karmionych naturalnie i mieszankami mlecznymi bez istotnych różnic statystycznych ( $p > 0,05$ ).

Sposób żywienia badanych dzieci niezależnie od ich wieku w chwili badania pokazują, iż

karmienie naturalne jak i w oparciu o mieszanki mleczne dają bardzo porównywalne wartości średnie stężenia 25(OH)D w surowicy, mieszczące się w zakresie stężenia optymalnego (ryc.27). Wykazano, iż w grupie wiekowej 12-24 m.ż. żywienie mieszanką modyfikowaną w sposób istotny ( $p=0,02034$ ) zapewnia optymalne zabezpieczenie w witaminę D3.

Dieta w oparciu o podaż mleka krowiego dotyczyła jedynie 6 badanych dzieci, wszystkie były w grupie wiekowej > 18 miesiąca życia i u wszystkich deklarowana była stała suplementacja witaminy D3. W tej grupie badanych średnie stężenie 25(OH)D było znacząco niższe od średnich dla dzieci karmionych naturalnie i dzieci karmionych mieszankami mlecznymi, i mieściło się w zakresie wartości suboptymalnych (ryc.27). W analizie statystycznej wykazano, iż w grupie wiekowej 24-36m.ż. zarówno karmienie naturalne jak i mlekiem krowim w istotny sposób ( $p= 0,01150$ ) predysponuje do wystąpienia deficytu witaminy D3.

#### **4.6. Korelacja stężenia 25(OH)D w surowicy krwi z biochemicznymi parametrami gospodarki wapniowo- fosforanowej**

Każdemu z dzieci uczestniczących w badaniu oprócz aktywności metabolitu witaminy D3 jednocześnie oznaczano stężenie wapnia całkowitego (Ca)/ wapnia zjonizowanego oraz fosforu całkowitego (P) i aktywności fosfatazy alkalicznej (bez rozbitcia na izoenzym kostny i wątrobowy). Badanie wykonywano z tej samej próbki krwi co oznaczenie stężenia 25(OH)D i niezależnie od tej wartości. Taka konfiguracja badań pozwalała na określenie siły wpływu 25(OH)D w szczególności w stężeniach suboptymalnych i deficytowych, na gospodarkę wapniowo- fosforanową.

Niedobór witaminy D3 skutkuje zaburzeniami biochemicznymi pod postacią:

- hipokalcemii
- hiperfosfatemii
- wzrostem aktywności fosfatazy alkalicznej (głównie izoenzymu kostnego)

Tabela 29. Parametry gospodarki Ca- P przy stężeniu 25(OH)D < 20ng/ml

25(OH)D (ng/ml)	Fosfataza alkaliczna (U/l)	Ca całkowity/ surowica (mmol/l)	Fosfor / surowica (mmol/l)
5	309	2,92	1,33
8	-	2,28	1,53
13	348	2,5	2,1
15	309	2,92	1,33
15	176	2,33	1,44
17	149	2,56	1,69
17	317	2,73	2,17
17	186	2,37	1,38
17	145	2,51	1,75
17	791	2,69	1,9
18	-	2,4	1,28
18	182	2,68	1,67
18	181	2,58	1,68
18	308	2,63	2,32
19	189	2,49	1,64
19	336	2,63	2,28
20	280	2,78	1,81

Przyjęto wartości normatywne fosfatazy alkalicznej z podziałem wiekowym, zgodnie z przedstawionym przez laboratorium "DIAGNOSTYKA" zakresem :

6 dni-6 miesięcy życia <449 U/L

7 miesięcy - 1 rok życia <462 U/L

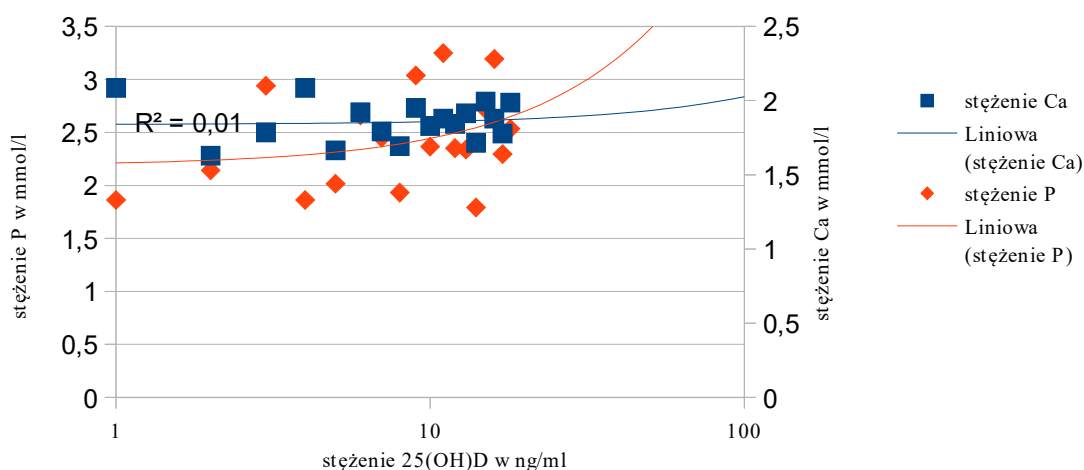
1-3 lata życia <281 U/L.

Przy tak przyjętym zakresie norm tylko w jednym oznaczeniu stwierdzono wartość znamienne powyżej górnej granicy (791 U/L), w dwóch kolejnych oznaczeniach nieznaczne przekroczenie normy wiekowej (360U/L w 22m.ż.; 348U/L w 13m.ż.). Łącznie podwyższoną aktywność fosfatazy alkalicznej stwierdzono u 3 badanych dzieci, co stanowi 15,8% grupy z deficytem witaminy D<sub>3</sub>. Zatem u 84,2% dzieci z niedoborem tej witaminy nie odnotowano



reaktywnego wzrostu aktywności FA (tab.29). Nie stwierdzono również ujemnej korelacji między stężeniem 25(OH)D a aktywnością FA (*fosfataza alkaliczna- FA*).

Kolejnym parametrem poddawanym analizie było stężenie wapnia całkowitego w surowicy (tab.29, ryc.28). Rekomendowanym przez laboratorium, wykonujące analizy, zakresem stężeń wapnia w surowicy jest wartość 2,15-2,55 mmol/l, niezależnie od wieku. Przyjmując powyższy zakres norm hiperkalcemię stwierdzono u 8-ga dzieci z niedoborem witaminy D3 (42,1%), z czego dwoje miało również podwyższoną aktywność FA. U żadnego z dzieci tej grupy nie stwierdzono hipokalcemii. W zakresie ostatniego z badanych parametrów – stężenie fosforu nieorganicznego w surowicy krwi- początkowo przyjęto również rekomendowany przez laboratorium zakres norm: 0,87-1,45mmol/l, który jednak nie uwzględnia zwiększonego metabolizmu kostnego u dzieci. Wobec czego w oparciu o normy eksperckie ustalono górny zakres normy < 2,3 mmol/l. Przy takim ujęciu zakresu noramtywnego, nie stwierdzono hiperfosfatemii u żadnego z dzieci w grupie z deficytem witaminy D<sub>3</sub>. Nie stwierdzono również parametrów odpowiadających rozpoznaniu hipofosfatemii. (tab.29, ryc.28).



Ryc. 29. Stężenie Ca i P w surowicy dzieci z niedoborem witaminy D3

Wyniki badań gospodarki Ca-P u dzieci < 3r.ż., u których stwierdzono niedobór witaminy D. Nie wykazano istotnych statystycznie i typowych dla niedoboru witaminy D zaburzeń gospodarki wapniowo- fosforanowej.

W zakresie stężeń suboptymalnych 25(OH)D tj. 20- 30ng/ml stwierdzonych u 42-ga dzieci ,

jedynie u 3-ga z nich wykazano podwyższone aktywności fosfatazy alkalicznej, co stanowi 7,2% grupy (tabela 30).

*Tabela 30.* Parametry gospodarki Ca-P u dzieci z suboptymalnym stężeniem 25(OH)D

<b>Wiek badanego</b>	<b>25(OH)D</b>	<b>FA U/l</b>	<b>Ca mmol/l</b>	<b>P mmol/l</b>
15m.(n=1)	24	1652	2,71	2,01
15m.(n=1)	24	351	2,56	1,88
19m.(n=1)	27	297	2,59	1,77

U jednego dziecka w wieku 15 miesięcy aktywność fosfatazy alkalicznej znacząco przekraczała wartości normatywne dla wieku: 1652U/l w stosunku do normy laboratoryjnej < 281U/l. Wobec braku innych zaburzeń gospodarki wapniowo- fosforanowej oraz braku objawów klinicznych przy tak znacznym podwyższeniu aktywności FA można podejrzewać łagodną przemijającą hiperfosfatazemię. W pozostałych dwóch przypadkach wzrost aktywności FA powyżej normy wiekowej były nieznaczne i również bez istotnych nieprawidłowości w stężeniach elektrolitów Ca i P. W grupie tej nie stwierdzono u żadnego z badanych hipo- lub hiperfosfatemii. Zwraca uwagę stężenie Ca całkowitego plasujące się zazwyczaj tuż powyżej górnej granicy normy laboratoryjnej, co nasuwa wniosek o konieczności weryfikacji tejże normy.

W grupie dzieci z optymalnym stężeniem 25(OH)D liczącej 128 osób u 20-ga stwierdzono zwiększoną aktywność FA, co stanowi 15,6% grupy. Podobnie jak w poprzednich grupach nie wykazano towarzyszących istotnych zaburzeń stężeń Ca/P (tab.31).

*Tabela 31:* Parametry gospodarki Ca-P u dzieci z optymalnym stężeniem 25(OH)D

<b>Wiek badanego</b>	<b>25(OH)D</b>	<b>FA</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>
1m.	34	485	2,75	2,19
2m.	45	512	2,71	2,1
9m.	36	501	2,69	1,98
12m.	53	841	2,44	1,66
14m.	36	944	2,75	1,62
14m.	38	328	2,59	2,02

14m.	42	341	2,65	1,98
15m.	31	303	2,5	1,9
16m.	40	413	2,51	1,64
16m.	48	304	2,8	1,9
16m.	49	371	2,67	1,97
18m.	32	330	2,63	1,92
18m.	50	311	2,48	1,52
19m.	39	825	2,46	1,84
23m.	33	473	2,66	1,85
23m.	39	478	2,5	1,72
23m.	35	336	2,56	1,36
24m.	41	309	2,6	1,55
25m.	33	297	2,52	
34m.	43	389	2,35	1,14

#### 4.7. Fotoprotekcja- wpływ na wartości 25(OH)D.

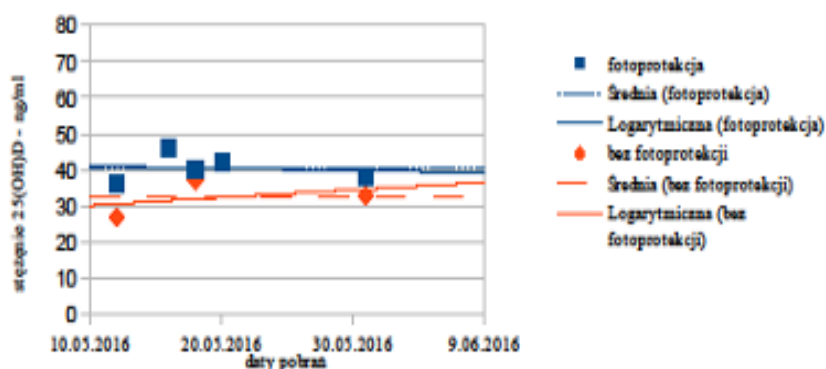
Większość rodziców dzieci włączonych do badania deklarowała świadomą ekspozycję na promieniowanie słoneczne, a jednocześnie znamiennej większości rodziców z tej grupy stosowała fotoprotekcję ( z ang. *Sun Protecting Factor- SPF*) SPF>30. Przez świadomą ekspozycję na promieniowanie słoneczne rozumieć należy ekspozycję co najmniej 18% ciała bez zastosowania ochrony przeciwsłonecznej. Interpretacja zawartego w ankiecie pytania o ekspozycję na promieniowanie słoneczne nie zawsze była właściwa i w większości przypadków rozumiana była jako odbywanie spacerów w słoneczne dni. Celem poniżej analizy jest wykazanie czy stosowanie ochrony przeciwsłonecznej zgodnej z rekomendacjami dla dzieci tj. SPF> 30, ma istotny wpływ na stężenie 25(OH)D. W miesiącach letnich trudno przeprowadzić analizę porównawczą, gdyż wszyscy rodzice deklarowali stosowanie ochrony przeciwsłonecznej. Stąd zdecydowano o pominięciu w analizie danych z lipca i czerwca 2016. Niemniej ważnym podkreślenia wydaje się fakt, iż wszystkie oznaczenia 25(OH)D w obu tych miesiącach znamiennej przekraczały wartość graniczną 30ng/ml. Poddano natomiast analizie dane z maja i sierpnia, w których mimo usłonecznienia implikującego konieczność

zastosowania fotoprotekcji nie wszyscy opiekunowie deklaruowali jej stosowanie (tabela 32, ryc. 23 i 24).

Tabela 32. Stężenie 25(OH)D u dzieci eksponowanych na promieniowanie słoneczne (n=10) w miesiącu maju 2016r. w zależności od stosowania fotoprotekcji lub braku fotoprotekcji.

Stężenie 25(OH)D w ng/ml u dzieci	
stosowano SPF	nie stosowano SPF
36	37
38	27
40	33
42	
46	
46	
Średnia 41,33	Średnia 32,33

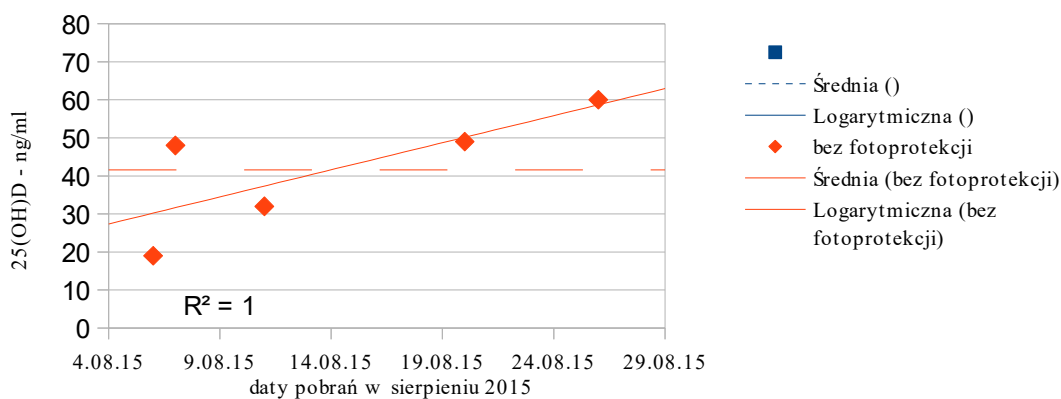
Wyniki tych badań nie wykazały ujemnej korelacji stężenia 25(OH)D z zastosowaną fotoprotekcją o SPF>30. U 90% (n=9) analizowanych w maju 2016r. dzieci wykazano optymalne stężenie 25(OH)D, a jedynie u 10% (n=1) stężenie suboptymalne i to u dziecka, którego opiekun deklaruował w ankiecie brak stosowania fotoprotekcji.



Ryc. 30. Porównanie stężenia 25(OH)D u dzieci z zastosowaniem fotoprotekcji i bez jej stosowania. Dane z maja 2016r.

Analiza dotyczy 8 badanych, u których pobranie miało miejsce w tym samym dniu z dokładnością +/- 1 dzień. Logarytmiczna krzywa regresji pokazuje istotną tendencję wzrostową stężenia 25(OH)D u dzieci bez stosowanej fotoprotekcji. Wartości średnich stężeń 25(OH)D nie porównują tych spotrzeżeń i wykazują znacznie niższe wartości u dzieci bez fotoprotekcji, niż u tych z zastosowaną fotoprotekcją.

W obu przedstawionych miesiącach porównano pomiary dokonane w tym samym dniu +/- 1 dzień, wartości jednostkowych oznaczeń stężenia 25(OH)D wydają się wyższe u dzieci, u



Ryc.31. Porównanie stężenia 25(OH)D u dzieci z zastosowaniem fotoprotekcji i bez jej stosowania. Dane z miesiąca sierpnia 2015r.

Analiza dotyczy 10 badanych, u których pobranie miało miejsce w tym samym dniu z dokładnością +/- 1 dzień. Logarytmiczna krzywa regresji pokazuje wyraźną tendencję wzrostową stężeń 25(OH)D u dzieci bez stosowanej fotoprotekcji (n=5) i tendencję spadkową u dzieci z zastosowaną fotoprotekcją (n=5). Wartości średnich stężeń 25(OH)D z kolei utrzymują się wyraźnie wyżej u dzieci z zastosowaną fotoprotekcją niż bez niej.

których stosowano fotoprotekcję. Jednakże kiedy podda się analizie statystycznej z określeniem logarytmicznej krzywej regresji, okazuje się iż trend zdecydowanie wzrastający jest u dzieci u których nie stosowano fotoprotektorów, a zaznaczona regresja u tych z fotoprotekcją ( ryc.30 i 31).

Tabela 33. Stężenie 25(OH)D w ng/ml u dzieci eksponowanych na słońce w miesiącach sierpień, wrzesień, październik 2015r. ( fotoprotekcja vs brak fotoprotekcji)

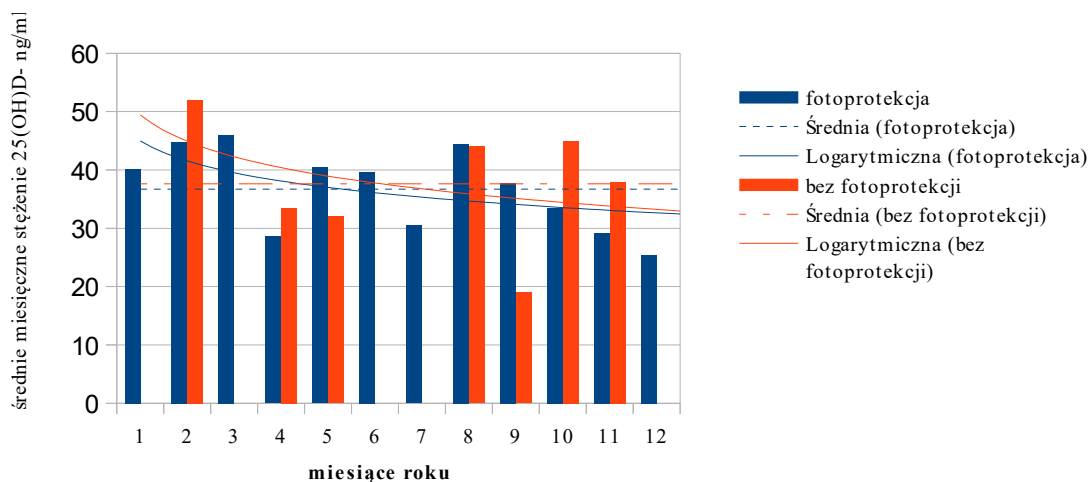
Sierpień (n=32)		Wrzesień (n=19)		Październik (n=18)	
SPF (n=14)	Bez SPF( n=6)	SPF(n=9)	Bez SPF (n=1)	SPF (n=6)	Bez SPF (n=1)
71	60	61	19	43	45
59	56	49		38	
57	49	41		36	
57	48	38		35	
50	32	38		28	
49	19	37		21	
48		34			
40		24			
38		18			
33					
31					
30					
30					
30					
Średnia 44,5	Średnia 44,0	Średnia 37,78	Średnia 19,0	Średnia 33,5	Średnia 45,0

*Tabela 34:* Stężenie 25(OH)D w ng/ml u dzieci eksponowanych na słońce w miesiącach listopad, grudzień 2015r. i styczeń, luty, marzec 2016r. ( fotoprotekcja vs brak fotoprotekcji)

Listopad (n=20)		Grudzień (n=11)		Styczeń (n=17)		Luty (n=13)		Marzec (n=9)	
SPF (n=11)	Bez SPF (n=2)	SPF(n=5)	Bez SPF (n=0)	SPF (n=10)	Bez SPF (n=0)	SPF (n=4)	Bez (n=1)	SPF (n=4)	Bez (n=0)
40	52	40		65		64	52	61	
39	24	32		61		58		56	
39		21		51		36		39	
34		17		50		21		28	
33		17		42					
26				37					
25				31					
24				28					
24				22					
21				15					
17									
$\chi$ 29,27	$\chi$ 38,0	$\chi$ 25,4	-	$\chi$ 40,2	-	$\chi$ 44,75	$\chi$ 52,0	$\chi$ 46,0	-

*Tabela 35:* Stężenie 25(OH)D w ng/ml u dzieci eksponowanych na słońce w miesiącach kwiecień, maj, czerwiec, lipiec 2016r. ( fotoprotekcja vs brak fotoprotekcji)

Kwiecień (n=20)		Maj (n=10)		Czerwiec (n=19)		Lipiec (n=12)	
SPF (n=16)	Bez (n=2)	SPF (n=5)	Bez (n=2)	SPF (n=13)	Bez (n=0)	SPF (n=6)	Bez (n=0)
53	26	36	37	27		45	
42	41	38	27	28		42	
36		40		30		36	
36		42		30		22	
36		46		30		21	
32				34		17	
26				37			
25				38			
25				38			
25				42			
24				46			
24				47			
20				88			
19							
18							
17							
$\chi$ 28,625	$\chi$ 33,5	$\chi$ 40,4	$\chi$ 32,0	$\chi$ 39,62	-	$\chi$ 30,5	-



Ryc. 32 Porównanie średnich miesięcznych stężeń 25(OH)D u dzieci eksponowanych na promieniowanie słoneczne w ciągu rocznego badania (fotoprotekcja vs brak fotoprotekcji).

Wartości średnich dla danego miesiąca stężeń 25(OH)D u dzieci analizowane w aspekcie stosowania fotoprotekcji lub jej braku. Średnie dla obu tych grup utrzymują się na tysmany poziomie > 30ng/ml i nie wykazują istotnych statystycznie różnic. W zakresie logarytmicznej krzywej regresji widoczna jest w obu grupach tendencja do obniżania stężenia 25(OH)D w X, XI i XII.

Wyraźnie wyższe średnie stężenia metabolitu witaminy D<sub>3</sub> u dzieci z zastosowaną fotoprotekcją w maju i czerwcu (ryc. 31) wydają się być efektem nałożenia kilku czynników, jak sumacja suplementacji witaminy D przy karmieniu mieszankami modyfikowanymi, dłuższy czas ekspozycji na UVB u starszych dzieci i mniejszy stopień zakrywania ciała również u starszych dzieci. Istotnym problemem ograniczającym jakość porównania wydaje się być mała grupa dzieci bez stosowania fotoprotekcji. Znalezienie dzieci w tej samej grupie wiekowej okazało się praktycznie niemożliwe- pojedyncze osoby. W skali roku analiza danych pokazała brak istotnych statystycznie różnic w średnich miesięcznych stężeniach 25(OH)D u dzieci, u których stosowano ochronę przeciwsłoneczną i tych bez ochrony przeciwsłonecznej ( $p > 0,05$ ).

#### 4.8. Woda wodociągowa czy źródłana ?

Kolejnym parametrem poddawanym analizie jest jakość wody stosowanej do przygotowania mleka dla dzieci. Przy karmieniu mieszankami modyfikowanymi rodzice deklarowali głównie stosowanie wody mineralnej niskosodowej i wodociągowej, zarówno do przygotowywania mieszanek mlecznych, jak i napojów do picia. Rozróżnienie rodzajów wody może mieć

znaczenie z powodu odmiennej zawartości składników mineralnych, w tym głównie Ca i P będących szczególnie istotnymi w naszej analizie. Nadmiar Ca i P w diecie może blokować wchłanianie witaminy D3 i jej aktywność. Woda wodociągowa w Poznaniu zgodnie z danymi opublikowanymi przez Poznańską Stację Uzdatniania Wody (Centralna Oczyszczalnia Ścieków w Poznaniu) zawiera: 0,39- 0,42mg /dm<sup>3</sup> fosforu. Wg danych Laboratorium Aquanet w Poznaniu zawartość wapnia nie jest badana ,a wg norm europejskich i polskich nienormowana. Jednakże badanym parametrem jest twardość ogólna wody określana poprzez stężenie CaCO<sub>3</sub>, których stężenie w wodzie poznańskiej wynosi 282mg/l (16dH) przy normach obowiązujących w Polsce 60- 500mg/l (3- 28dH). pH wody w Poznaniu 7,7. Woda butelkowa źródłana głównie stosowana przez rodziców to Żywiec i Primavera, uznawane za wody niskozmineralizowane ( zawartość składników mineralnych 50- 500mg/l). Skład podawany przez producentów przedstawia się następująco (tabela 36):

*Tabela 36:* Porównanie składu wody wodociągowej i wód źródłanych powszechnie stosowanych do przygotowania mieszanek mlecznych

Parametr badany	Woda Żywiec- Zród	Woda Primavera	Woda wodociągowa
pH	7,4	7,4	7,7
Ca	41,69mg/l / 131,06mg/l HCO <sub>3</sub>	48,10 mg/l / 166,3mg/l HCO <sub>3</sub>	81,56mg/l / 282mg/l HCO <sub>3</sub>
P	-	-	0,39- 0,42mg/l

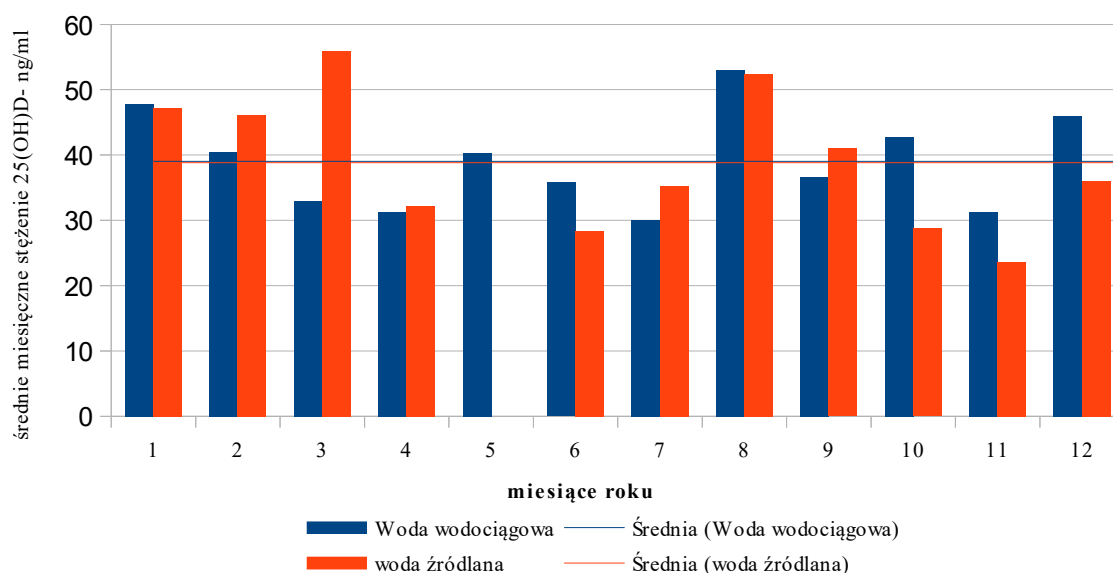
Poniżej przedstawiono wykaz dotyczący wyłącznie dzieci karmionych mieszankami modyfikowanymi, aby móc przeanalizować czy rodzaj wody, a co za tym idzie zawartość składników mineralnych (Ca, P) mają wpływ na stężenie 25(OH)D.



Tabela 37. Porównanie stężeń 25(OH)D w zależności od stosowanej wody ( wodociągowa vs źródłana)

Sierpień		Wrzesień		Październik		Listopad	
Wodociąg (n=5)	Źródłana (n=5)	Wodociąg (n=3)	Źródłana (n=7)	Wodociąg (n=5)	Źródłana (n=4)	Wodociąg (n=4)	Źródłana (n=3)
47	27	18	49	30	21	21	23
48	50	34	24	37	21	26	24
49	57	58	34	38	28	39	24
49	57		37	43	45	39	
72	71		41	66			
			51				
			51				
$\chi$ 53,0	$\chi$ 52,4	$\chi$ 36,66	$\chi$ 41,0	$\chi$ 42,8	$\chi$ 28,75	$\chi$ 31,25	$\chi$ 23,66
Grudzień		Styczeń		Luty		marzec	
Wodociąg (n=2)	Źródłana (n=2)	Wodociąg (n=6)	Źródłana (n=5)	Wodociąg (n=4)	Źródłana (n=5)	Wodociąg (n=1)	Źródłana (n=1)
45	32	28	31	37	21	33	56
47	40	42	33	40	36		
		50	37	41	52		
		51	46	44	58		
		51	89		64		
		65					
$\chi$ 46,0	$\chi$ 36,0	$\chi$ 47,83	$\chi$ 47,2	$\chi$ 40,5	$\chi$ 46,2	$\chi$ 33,0	$\chi$ 56,0
Kwiecień		Maj		Czerwiec		Lipiec	
Wodociąg (n=8)	Źródłana (n=4)	Wodociąg (n=4)	Źródłana (n=0)	Wodociąg (n=6)	Źródłana (n=3)	Wodociąg (n=3)	Źródłana (n=4)
18	25	37		23	25	22	21
23	32	38		27	30	32	23
24	36	40		34	30	36	43
24	36	46		38			54
25				46			
41				47			
42							
53							
$\chi$ 31,25	$\chi$ 32,25	$\chi$ 40,25	$\chi$ –	$\chi$ 35,83	$\chi$ 28,33	$\chi$ 30,0	$\chi$ 35,25

Analiza danych całorocznych wartości stężenia 25(OH)D w przypadku zastosowania wody wodociągowej bądź źródłanej do przygotowania mieszanki mlecznej pokazała, iż nie ma istotnych różnic w wartościach średnich miesięcznych dla obu tych grup ( $p>0,05$ ). (ryc. 33)



Ryc. 33 Stężenie 25(OH)D a rodzaj wody używanej do przygotowania mieszanek mlecznych. (woda wodociągowa vs woda źródłana)

Wartości średniego stężenia 25(OH)D w miesiącu u dzieci spożywających wodę wodociągową lub źródłaną do przygotowania mieszanek mlecznych nie wykazują istotnych różnic między grupami. Uśrednienie w skali roku wartości średnich miesięcznych 25(OH)D daje jednoimienną wartość dla obu grup badanych. Zatemnie wykazano korelacji między rodzajem stosowanej wody a stężeniem 25(OH)D.

#### 4.9. Suplementacja witaminy D u dzieci z grupy badanej

W związku z bardzo mocnym ekspozycją na światło słoneczne i potrzebą suplementowania witaminy D3 w pierwszym roku życia, przy braku tak mocnego nacisku na kontynuację tejże po ukończeniu tego wieku, poddano analizie deklarowaną w ankiecie suplementację u dzieci > 1 roku życia.

Tabela 38: Deklarowane stosowanie suplementacji witaminy D3 u dzieci > 1 roku życia

1- 2 r.ż. (n= 62)		2- 3 r.ż. (n=34)	
Suplementacja	Bez suplementacji	Suplementacja	Bez suplementacji
33 (53,2%)	29 (46,7%)	11 (32,36%)	23 (67,65%)

Dane te wskazują na zdecydowaną tendencję do wygasania nawyku suplementowania witaminy D3 u dzieci po ukończeniu 1 roku życia. Jedynie co trzecie dziecko po ukończeniu 2-go roku życia otrzymywało nadal witaminę D, podczas gdy w 2-im roku życia już co 2-gie dziecko. Inaczej ujmując w 2-im roku życia liczba dzieci suplementowanych i niesuplementowanych jest praktycznie równa, podczas gdy w 3-im roku życia dzieci

suplementowanych jest dwukrotnie mniej niż niesuplementowanych ( tabela 38).

Wśród badanych otrzymujących suplementację witaminy D nie stwierdzono istotnie mniejszego odsetka dzieci z deficytem w porównaniu z dziećmi, które nie otrzymywały suplementacji. W zakresie wartości stężenia 25(OH)D zawartych w ramach stężenia suboptymalnego (20-30ng/ml) radykalnie wzrasta odsetek dzieci, które nie otrzymywały suplementacji witaminy D (30,77%) w stosunku do suplementowanych (17,64%) tj. tych które ją otrzymywały, co czyni różnicę już istotną statystycznie ( $p < 0,05$ ) (tabela 39).

*Tabela 39.* Występowanie niedoboru i suboptymalnego stężenia witaminy D u badanych w zależności od otrzymywanej suplementacji witaminy D, niezależnie od wieku badanych.

Stężenie 25(OH)D	Suplementowani	Niesuplementowani
20- 30 ng/ml	17,64%	30,77%
<20 ng/ml	7,84%	10,26%

## 5. Podsumowanie wyników badań

1. Wyniki badań potwierdzają częsty niedobór witaminy D3 u dzieci:

- stężenie 25(OH)D < 20ng/ml stwierdzono u 19 dzieci co stanowi 9,55% badanych
- stężenie 25(OH)D w zakresie 20- 30ng/ml stwierdzono u 52 dzieci co stanowi 26,13% badanych
- stężenie 25(OH)D > 30ng/ml u 128 dzieci co stanowi 64,32% badanych.
- Niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D3 ( sumarycznie wszyscy < 30ng/ml) dotyczy 35% populacji dzieci < 3 roku życia zamieszkujących na terenie miasta Poznania.

2. Niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D3 ( 25(OH)D w wartościach <30ng/ml ) nie implikuje poważnych zaburzeń w gospodarce wapniowo- fosforanowej.

3. Na stopień zabezpieczenia dzieci w witaminę D3 największy wpływ wydaje się mieć jej suplementacja u dzieci. Suplementacja u matki w trakcie ciąży nie implikowała istotnego zwiększenia stężenia 25(OH)D u dzieci w pierwszych 6 miesiącach życia. Podobnie suplementacja witaminy D3 w trakcie laktacji nie ma wpływu na stężenie 25(OH)D u dziecka, zatem jest ona konieczna jedynie dla zabezpieczenia potrzeb własnych matki karmiącej.
4. Wartość stężenia 25(OH)D w badanej grupie zależy od wieku dzieci. Częste zaprzestanie suplementacji witaminy D3 u dzieci po ukończeniu 1 roku życia ma wpływ na obniżenie jej stężenia w surowicy. Przy występującym w naszej szerokości geograficznej stopniu usłonecznienia oraz braku wzbogacania żywności w witaminę D jej suplementowanie w okresie od października do kwietnia w wieku intensywnego wzrastania dziecka wydaje się być uzasadnione i powinno być rekomendowane również po ukończeniu pierwszego roku życia.
5. Odnotowano sezonowość zmian średniego stężenia 25(OH)D w surowicy dzieci: wzrost po okresie zwiększonego usłonecznienia w miesiącach letnich ( sierpień, wrzesień), oraz spadek w następnych miesiącach ( listopad, grudzień) .
6. Nie wykazano istotnej różnicy w stężeniach 25(OH)D u dzieci, u których stosowano fotoprotekcję lub jej nie stosowano przy założeniu stałego wskaźnika usłonecznienia.
7. Stosowanie wody źródlanej zamiast wody wodociągowej nie ma istotnego wpływu na gospodarkę wapniowo- fosforanową i stężenie 25(OH)D u dzieci.
8. Sposób żywienia dzieci poniżej 1 roku życia tj. karmienie naturalne vs mieszanki mlekozastępcze ma wpływ na stężenie 25(OH)D. Dzieci karmione mieszankami mlekozastępczymi i otrzymujące dawkę suplementacyjną witaminy D wykazywały znamien- nie wyższe stężenia 25(OH)D niż dzieci karmione piersią i otrzymujące witaminę D. Podaż mleka krowiego w grupie wiekowej > 24m.ż., przy jednoczesnym zaprzestaniu suplementacji witaminy D, w sposób istotny statystycznie implikowały wystąpienie niedoboru witaminy D3.

9. Koniecznym jest zastosowanie dawki terapeutycznej witaminy D<sub>3</sub> w przypadku stwierdzenia ewidentnego niedoboru witaminy tj. stężenia 25(OH)D < 20ng/ml. Zalecaną dawką terapeutyczną jest 2000 IU/dobę stosowaną przez okres 1-3miesiący. Odpowiedź w postaci znamiennego wzrostu stężenia 25(OH)D obserwowano już po miesiącu stosowania powyższej terapii. Po zastosowaniu dawki terapeutycznej witaminy D konieczne jest kontrolne oznaczenie stężenia 25(OH)D, wapnia i fosforu po okresie około 3 miesięcy.
10. U żadnego z dzieci włączonych do badania nie obserwowano stężenia potencjalnie toksycznego (>100ng/ml) lub toksycznego (>200ng/ml) 25(OH)D.
11. Przedłużone karmienie piersią ( powyżej 1 roku życia) przy zastosowaniu regularnej, codziennej suplementacji witaminy D i zabezpieczeniu endogennego źródła witaminy D<sub>3</sub> również nie implikuje jej deficytu. Wykazane stężenia 25(OH)D < 30ng/ml u wszystkich dzieci, którym podawano mleko krowie, wynika z zaniechania stosowania rutynowej suplementacji po 1 roku życia i podaży mleka o niskiej zawartości witaminy D<sub>3</sub>, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami.

## 6. Dyskusja

Ostatnie 30 lat badań nad witaminą D<sub>3</sub> pozwoliło uczynić powszechnie uznanym jej znaczenie dla organizmu człowieka. Plejotropowe działanie witaminy D<sub>3</sub>, wynikające z obecności VDR na komórkach licznych układów jak: kości, przewód pokarmowy, tkanka tłuszczowa, komórki wysp trzustkowych, komórki mięśnia sercowego, komórki śródbłonna naczyń, komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych, komórki układu immunologicznego, skóra, mózg, nerki, gruczoły dokrewne, zostało udowodnione w licznych badaniach. Jej klasyczne działanie kalcitropowe, opierające się na regulacji gospodarki Ca- P, utrzymaniu prawidłowej mineralizacji kości poprzez utrzymanie równowagi między kościotworzeniem a resorpcją kostną jest dobrze udokumentowane. Badania prowadzone w ostatnich latach

pozwalają przypuszczać, iż blisko 1 miliard ludzi (bez podziału wiekowego) prezentuje niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D, przez co rozumiemy zarówno jawny niedobór, jak i jej suboptymalne stężenie. Co niepokojące niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D<sub>3</sub> stwierdza się niezależnie od szerokości geograficznej czy poziomu opieki medycznej. Jest to o tyle istotne, iż w naszej szerokości geograficznej (35- 45° N) synteza skórna witaminy D<sub>3</sub> jest zależna od czasu ekspozycji na UVB tj. ilości godzin słonecznych, a w szerokości <25° N wytwarzanie witaminy D<sub>3</sub> jest już niezależne od pory roku a zatem czasu ekspozycji na UVB.

W populacji pediatrycznej przeprowadzono relatywnie niewiele badań populacyjnych o szerokim zasięgu terytorialnym. Wieloośrodkowe badanie oceniające niedobór witaminy D<sub>3</sub> przeprowadzone przez Chlebna-Sokół i wsp. na terenie Polski u dzieci w wieku około- i pokwitaniowym (9- 12lat) [21], wykazało u około 75- 80% badanej populacji jej niedobór. Również badanie przeprowadzone przez Łupińską i współpracowników (2013) wśród dzieci łódzkich w wieku 9-15 lat [84] wykazało u 80% niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D<sub>3</sub>. Podobnie alarmujące są wyniki badań neonatologów (Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie), przeprowadzone na grupie 41 noworodków, u których w 100% stwierdzono niedobór witaminy D<sub>3</sub> (<20ng/ml). W badaniu własnym wykazano, iż 35% dzieci w wieku do 3 lat zamieszkujących miasto Poznań prezentuje niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D<sub>3</sub> (<30ng/ml). Powyżej cytowane badanie Chlebnej- Sokół i wsp. w odniesieniu do ośrodka poznańskiego wykazało niedobór witaminy D<sub>3</sub> w grupie wiekowej 9-12 lat na poziomie : 74% w okresie zimowym; 52,9% po okresie letnim. W badaniu własnym potwierdzono wyraźny wzrost odsetka dzieci ze stężeniem 25(OH)D > 30ng/ml już w sierpniu i we wrześniu tj. po okresie zwiększonej ekspozycji na UVB. W analizowanych miesiącach odsetek dzieci ze stężeniem 25(OH)D > 30ng/ml wynosił odpowiednio 81,25% w sierpniu i 78,95% we wrześniu. W kolejnych miesiącach jesiennych obserwowano znamiennej wzrost odsetka dzieci z niedostatecznym zabezpieczeniem witaminy D<sub>3</sub> do 60%. Jednocześnie w tym okresie odnotowano spadek liczby dzieci z optymalnym zabezpieczeniem w witaminę D<sub>3</sub>.

Przy czym najniższe wartości procentowe notowano już w listopadzie i grudniu, odpowiednio 20% i 54,54% badanych wykazywało stężenie 25(OH)D > 30ng/ml. Wyniki te wskazują na sezonowość stężeń witaminy D<sub>3</sub> zależną od ilości godzin słonecznych i jest zgodne z danymi naukowymi wskazującymi, iż efektywne promieniowanie UV docierające do powierzchni Ziemi osiąga swoje maximum w lipcu a minimum w grudniu. Zatem mając na względzie czas potrzebny do efektywnej endogennej syntezy skórnej, wrzesień jest miesiącem realnego wzrostu stężenia 25(OH)D w surowicy, co zostało potwierdzone w badaniu własnym. Podobnie w badaniach sezonowości wahań stężenia witaminy D<sub>3</sub> Bhattoa, jak również Hill i wsp. [9] wykazali istotnie wyższe stężenia pod koniec lata. Badanie dotyczące również polskiej populacji przeprowadzone przez Andersena i wsp.[3] na terenie czterech krajów Europy potwierdziło sezonowość stężeń witaminy D<sub>3</sub>, aczkolwiek wykazało ono iż u nastolatków stężenie 25(OH)D pozytywnie korelowało z przyjmowaniem preparatów witaminy D<sub>3</sub>, zaś u kobiet starszych z częstością przebywania na słońcu. Badanie Bolland i wsp. przeprowadzone na terenie Nowej Zelandii [147] również wykazało sezonowość: w badanej grupie mężczyzn niedobór witaminy D<sub>3</sub> wykazano w okresie letnim u 17%, a w okresie zimowym u 20%. Podobnie w grupie kobiet w wieku postmenopauzalnym stwierdzano deficyt witaminy D<sub>3</sub> w okresie letnim u 28- 56%, a w okresie zimowym u 56- 74%. Ponadto w badaniu własnym wykazano, iż długość spacerów jako pośredni parametr długości ekspozycji na UVB ma wpływ na stężenie 25(OH)D jedynie w miesiącach o niskim wskaźniku usłonecznienia (miesiące zimowe) - dodatnia korelacja. Jednocześnie wykazano, iż długość spaceru w miesiącach letnich nie ma wpływu na stężenie 25(OH)D w surowicy. Bez wątpienia stężenie 25(OH)D jest zależne od ekspozycji na UVB, aczkolwiek co ciekawe w Europie jest ono wyższe u mieszkańców północnych jej krańców w stosunku do zamieszkujących południe Europy.

Wielu badaczy wykazało liniową zależność stężenia 25(OH)D i wieku badanych, co znalazło również potwierdzenie w prezentowanym badaniu, gdzie odsetek niedostatecznego

zaopatrzenia w witaminę D<sub>3</sub> rośnie wraz z wiekiem badanych. Chlebna-Sokół i współpracownicy obserwowała również wzrost częstości występowania deficytu witaminy D wraz z wiekiem badanych [151]. W cytowanym badaniu w grupach dzieci między okresem niemowlęcym a wiekiem 7–10 lat deficyt witaminy D występował sporadycznie, ale już w przedziale wiekowym 11–18 lat liczba dzieci z deficytem (hipowitaminozą D) zwiększa się istotnie. Wyniki badań własnych wskazują na podobną tendencję. Niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D<sub>3</sub> (25(OH)D <30ng/ml; tj. łącznie grupa z suboptymalnym stężeniem i deficytem) w wieku 0-6m.ż. wykazano u 32,81% dzieci, odpowiednio w wieku 6-12m.ż. u 19,51%, w grupie wiekowej 12-24 m.ż. u 39,06%, a w grupie 24-36 m.ż. u 54,84% dzieci. W przypadku analizowanych dzieci, niski odsetek niedoboru witaminy D<sub>3</sub> w wieku niemowlęcym wynika przede wszystkim z suplementacji witaminy D<sub>3</sub> prowadzonej w sposób obligatoryjny do 1 roku życia, a w wieku wczesnodziecięcym w bardzo uznaniowy, mimo iż zalecenia ekspertów jednoznacznie określają potrzebę jej suplementowania również w okresie poniemowlęcym. Ponadto na niski procent dzieci z niedoborem witaminy D<sub>3</sub> w grupie wiekowej 6- 12 miesiąca życia może mieć wpływ zmiana profilu żywienia z przesunięciem ciężaru na karmienie mieszankami modyfikowanymi, wzbogacanymi obligatoryjnie w witaminę D.

Badana zależność zabezpieczenia w witaminę D<sub>3</sub> od sposobu karmienia dzieci, nie wykazała istotnej różnicy szczególnie w grupie najmłodszych karmionych pokarmem matki vs karmionych mieszanką modyfikowaną, co znajduje uzasadnienie w regularnie stosowanej suplementacji witaminy w tej grupie wiekowej niezależnie od sposobu karmienia. Podobne wnioski wyciągnięto z badania realizacji wytycznych podaży witaminy D i K w populacji niemowląt mieszkających w środowisku miejskim na Górnym Śląsku [Obuchowicz, Jarecka i wsp.; 152]. Badanie to pokazało znamiennej wzrost świadomej suplementacji witaminy D u niemowląt karmionych naturalnie, jak również zasadność stosowania suplementacji w dawce 400IU/dobę u dzieci spożywających należne porcje mieszanek humanizowanych zgodnie z



zaleceniami z 2013 i 2018 [99.100], co we wcześniejszych zaleceniach było podważane. W badaniu własnym wykazano korelację między rodzajem spożywanego mleka a stężeniem 25(OH)D jedynie w grupie dzieci > 18m.ż.( n=6) życia . Dotyczyło to dzieci spożywających mleko krowie, u których częściej odnotowywano stężenie < 30ng/ml, niż u tych które karmione były mieszankami modyfikowanymi lub w sposób naturalny. Suplementacja nie wydaje się mieć istotnego wpływu na wynik o tyle, iż wszyscy deklarowali podaż witaminy do chwili badania, aczkolwiek wielkość dawki suplementacyjnej ma już istotny wpływ. Zgodnie z danymi ankietowymi do 2 roku życia deklarowana była dawka 400IU/dobę.

Poddano również analizie wpływ rodzaju wody do przygotowywania mieszanki modyfikowanej (woda mineralizowana vs woda wodociągowa) na stężenie 25(OH)D i nie udowodniono powiązania w tym zakresie. Zatem usilne lansowanie stosowania wody butelkowanej zamiast wodociągowej nie znajduje uzasadnienia w mieście Poznaniu, gdzie deklarowany przez Wodociągi Miejskie skład mineralny wody jest o blisko dwukrotnie większej zawartości jonów wapnia niż w wodzie butelkowanej i nie implikuje istotnych różnic w stężeniu 25(OH)D u dzieci otrzymujących wodę wodociągową w porównaniu z dziećmi otrzymującymi wody źródlane. Badań o takim zakresie analizy w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono.

Powszechnie obecnie zalecana i stosowana fotoprotekcja, jako prewencja chorób nowotworowych skóry, wydaje się być istotnym czynnikiem ograniczającym endogenną syntezę skórą witaminy D<sub>3</sub>, w szczególności u niemowląt u których nie zaleca się bezpośredniej ekspozycji na słońce. Pierwsze badania Matsuoki i wsp. wskazywały praktycznie na wyłączenie tej drogi pozyskiwania witaminy D<sub>3</sub> [38,53]. Zalecane u dzieci środki przeciwsłoneczne o SPF>30 eliminowały w 99% syntezę skórą. Dalsze obserwacje wykazały, że w życiu codziennym stosowanie kremów z wysokim SPF nie ma aż tak istotnego wpływu na stężenie 25(OH)D. Dodatkowo należy pamiętać, iż dzienną dawkę ~ 1000- 2000IU zapewnia nam 15-20 minutowa ekspozycja 18% niezabezpieczonej skóry.

Dodatkowym czynnikiem poprawiającym status zabezpieczenia w witaminę D<sub>3</sub> w okresie letnim, mimo stosowanych preparatów przeciwsłonecznych, jest jej suplementacja. W badaniu własnym również nie wykazano istotnego wpływu stosowanej fotoprotekcji na stężenie 25(OH)D zarówno w szczegółowej analizie całorocznej, jak i w ujęciu wiekowym. Aczkolwiek długotrwałe wysokie usłonecznienie, istotne statystycznie  $p=0,0345$  w miesiącach letnich, z potencjalnie dłuższym przebywaniem na zewnątrz dało odpowiedź w postaci wzrostu stężenia 25(OH)D zarówno w wartościach średniej, jak i mediany we wszystkich grupach wiekowych, w miesiącu sierpniu i wrześniu. Przy czym wzrost ten był notowany niezależnie od sposobu żywienia czy stosowanej suplementacji. Badania sezonowej zmienności stężenia 25(OH)D wykazują podobną zależność z istotnym wzrostem jego stężenia w miesiącach sierpień i wrzesień [60,53]. Wyraźnie wyższe średnie miesięczne stężenia 25(OH)D stwierdzone u dzieci, u których zastosowano środki przeciwsłoneczne, wydają się być efektem nałożenia wpływu innych czynników, jak sumacja suplementacji witaminy D<sub>3</sub> przy karmieniu mieszankami modyfikowanymi u niemowląt również wzbogacanymi w witaminę D, dłuższy czas ekspozycji na promieniowanie słoneczne i mniejszy stopień zakrywania ciała u starszych dzieci. Fakt wpływu hypowitaminozy witaminy D<sub>3</sub> kobiet ciężarnych na stężenie tejże witaminy u noworodków jest powszechnie znany. Stąd rekomendowana suplementacja witaminy D<sub>3</sub> zarówno u kobiet ciężarnych, jak i w okresie okołoprokreacyjnym, gdyż istnieją dowody że niedobory witaminy D w ciąży implikują zaburzenia mineralizacji szkieletu u niemowląt. W badaniach udowodniono korelację między stężeniem witaminy D<sub>3</sub> u matki i noworodka. Yorifuji J. w swoich obserwacjach wykazał korelację między niedoborem witaminy D<sub>3</sub> u kobiety ciężarnej a występowaniem objawu rozmiękania potylicy u 22% noworodków, rodzonych głównie w miesiącach wczesnowiosennych. U 37,3% tychże noworodków po miesiącu od porodu stwierdzano niedobór witaminy D<sub>3</sub> ze stężeniem 25(OH)D <10ng/ml [149]. Comargo C.A. poszedł w badaniach dalej, wykazując iż niskie spożycie witaminy D przez kobiety ciężarne

wiąże się z częstszymi incydentami zaostrzeń astmy u dzieci poniżej 3 roku życia oraz gorszą reakcją na leki bronchodylatacyjne [150]. W badaniach własnych nie wykazano wpływu suplementacji witaminy D w czasie ciąży na stan zaopatrzenia w tę witaminę u potomstwa do 3 roku życia. Wyższa średnia stężenia 25(OH)D w surowicy niemowląt karmionych mieszankami modyfikowanymi w stosunku do karmionych naturalnie, przy stałym warunku stosowania suplementacji witaminy D<sub>3</sub> w czasie ciąży, wydaje się mieć jedynie związek ze zwiększoną poporodowo dawką witaminy D<sub>3</sub> wynikającą z sumowania się dawki suplementacyjnej z dawką pozyskiwaną z mieszanki mlecznej. Różnice w stężeniach 25(OH)D u dzieci matek, które pobierały witaminę D w czasie ciąży w stosunku do tych które jej nie pobierały nie wykazywały różnicy statystycznej. Testy korelacji wykazały wręcz zależność między brakiem suplementacji witaminy D w czasie ciąży a optymalnym stężeniem 25(OH)D u dzieci, co można tłumaczyć sumienną realizacją profilaktyki niedoboru witaminy D. Ponadto wykazywana w badaniach korelacja między stanem zaopatrzenia w witaminę D<sub>3</sub> kobiety ciężarnej i jej potomstwa dotyczy głównie okresu noworodkowego, który nie był analizowany w niniejszym badaniu. Kryterium włączenia determinowało wiek badanego powyżej 1 miesiąca życia. Zalecenia suplementacji witaminy D u kobiet karmiących piersią wynikają ze zwiększonego obrotu kostnego i zwiększonej aktywności PTH w czasie laktacji oraz niewielkiej zawartości tejże witaminy w pokarmie tj 20- 70j.m./l. Zatem można wyciągnąć wniosek, iż ryzyko niedoboru witaminy D<sub>3</sub> u dzieci karmionych piersią bez zastosowania suplementacji jest istotne. Wielkość dawki suplementacyjnej podczas laktacji ma duże znaczenie, jak wykazano w badaniach dopiero podaż 4000j.m./dobę powodowało wzrost zawartości witaminy D<sub>3</sub> w pokarmie do 100j.m./l i znaczący wzrost stężenia 25(OH)D w surowicy dziecka [155]. W badaniu własnym analizowano stężenie 25(OH)D u dzieci karmionych piersią w różnych grupach wiekowych w zależności od przyjmowania witaminy D przez matkę karmiącą, nie analizowano wielkości tej dawki. Należy jednak nadmienić, iż deklarowane przez matki w ankiecie przyjmowanie suplementacji witaminy D sprowadzało

się w większości do przyjmowania preparatów wielowitaminowych dla kobiet karmiących lub ciężarnych, tylko w pojedynczych przypadkach deklarowano spożycie na poziomie 1000IU/dobę - 3 osoby i 2000IU/ml - 5 osób. U niemowląt karmionych piersią w wieku 1-6 miesiąca życia, których matki nie przyjmowały suplementacji witaminy D, stwierdzono stężenie 25(OH)D < 20ng/ml w 50% przypadków. Natomiast w grupie niemowląt karmionych piersią <6 miesiąca życia, których mamy przyjmowały preparaty witaminy D, wykazano deficyt u niespełna 9%. Dane przedstawione wydają się potwierdzać wcześniejsze spostrzeżenia i dane z literatury, iż suplementacja witaminy D<sub>3</sub> w dawce do 1000j.m./dobę w trakcie laktacji służy przede wszystkim zabezpieczeniu potrzeb własnych matki. Jak również wykazują tendencję do obniżania stężenia 25(OH)D w miarę trwania karmienia piersią > 10 miesiąca życia dziecka, niezależnie od stosowanej u matki suplementacji.

Istotnym czynnikiem zapobiegającym wystąpieniu deficytu witaminy D<sub>3</sub> u dzieci jest stosowanie suplementacji tejże witaminy całorocznie do 1 roku życia, a w kolejnych latach życia w okresie od września do maja. Zalecenie to najsumienniejsze realizowane jest u dzieci do 1 roku życia, ale i tutaj 3,5% dzieci nie otrzymywało suplementacji witaminy D<sub>3</sub>. Zdecydowane pogorszenie sytuacji w zakresie realizacji zaleceń dotyczących profilaktyki niedoboru witaminy D<sub>3</sub> następuje w 2. i 3. roku życia. W 2. roku życia już tylko co drugie dziecko otrzymuje suplementację witaminy D, a w trzecim roku życia deklarowano podaż prewencyjną witaminy D tylko u co trzeciego z badanych dzieci w danej grupie wiekowej. W aspekcie występowania niedoboru witaminy D<sub>3</sub> nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między grupą otrzymującą witaminę D a grupą, która jej nie otrzymywała. Zgoła odmiennie wnioski wypływają z analizy grupy badanych, u których stwierdzono suboptymalne stężenie witaminy D<sub>3</sub>. W tejże grupie wykazano istotną statystycznie różnicę między grupami otrzymującymi i nieotrzymującymi suplementacji witaminy D, dowodząc iż w grupie bez suplementacji zdecydowanie częściej (30,77%) odnotowywano suboptymalne stężenie witaminy D<sub>3</sub>, niż w grupie z suplementacją (17,64%). Suplementacja na poziomie

populacyjnym, jak jest aktualnie rekomendowana, ma na celu eradykację niedoboru witaminy D<sub>3</sub>. W aspekcie społecznym ze względu na nieograniczoną dostępność preparatów witaminy D, suplementacja populacyjna wymaga jednak sprawowania pewnej kontroli w celu przeciwdziałania incydentom nadmiernej podaży tej witaminy. Powszechność suplementów diety nie podlegających dostatecznemu nadzorowi oraz powszechność reklam tych preparatów mogą doprowadzić do nadmiernej podaży witaminy D. W badaniu własnym wykazano stężenie 25(OH)D > 80 ng/ml (stężenie wysokie) jedynie u dwojga dzieci co stanowi 1,0% badanych oraz stężenie w przedziale 60- 80ng/ml u 12 dzieci co stanowi 6% badanych. Podobne spostrzeżenia zawarła Rowicka w swojej pracy z 2012r. [153]. W badaniu uczestniczyło 66 dzieci w wieku od 2. do 5. roku życia i tylko 22,7% z nich otrzymywało preparaty witaminy D. Wielkość podawanej dawki witaminy D wynosiła średnio 143,6 +/- 132,9j.m./dobę, a zatem poniżej rekomendowanej dawki. W kolejnej swojej pracy z 2017r. Rowicka i współpracownicy [154], w badaniu ankietowym 115 dzieci w wieku od 2 do 10 lat, potwierdzili stosowanie suplementacji witaminy D u 52,2%, przy czym 76,7% z nich przyjmowało dawkę mniejszą od rekomendowanej. Wykazano iż średnie stężenie 25(OH)D u tych dzieci wynosiło 20,1 ng/ml co potwierdzają również moje spostrzeżenia, iż brak suplementacji witaminy D u dzieci > 1 roku życia skutkuje głównie występowaniem suboptymalnego stężenia 25(OH)D.

Niedobór witaminy D<sub>3</sub> może powodować zaburzenia gospodarki wapniowo- fosforanowej pod postacią: hipokalcemii, hipofosfatemii, wzrostu aktywności fosfatazy zasadowej, wzrostu stężenia PTH. Warto podkreślić jest, iż okres pełnoobjawowego niedoboru witaminy D poprzedzony jest zazwyczaj wieloletnim okresem subklinicznych zmian niecharakterystycznych, którego cechą zmienną jest stopniowe obniżanie się stężenia 25(OH)D we krwi. W subklinicznych niedoborach stężenie 25(OH)D jest obniżone, ale nie spada poniżej 20 ng/ml (50 nmol/l), natomiast w jawnych niedoborach witaminy D stężenie we krwi jest niższe niż 10 ng/ml (25 nmol/l) [11, 111]. W pracy analizowano surowicze

stężenie wapnia całkowitego, stężenie fosforu oraz aktywność FA. Uzyskane wyniki nie wykazały obniżenia stężeń wapnia i fosforu w surowicy dzieci, u których stwierdzano  $25(\text{OH})\text{D} < 20 \text{ ng/ml}$ . Uzyskane wyniki stężenia P wręcz przekraczały normy rekomendowane przez laboratorium DIAGNOSTYKA. Mając na względzie typowy dla wieku zwiększony obrót kostny zastosowano normę ekspercką  $0,87\text{-}2,3\text{mmol/l}$ . Podwyższoną aktywność FA stwierdzono jedynie u 3 z badanych dzieci, co stanowi 15,8% grupy ze stwierdzonym deficytem witaminy  $\text{D}_3$ . Przy czym należy zaznaczyć, że jedno z dzieci zaprezentowało w trakcie hospitalizacji poważne zaburzenie funkcji wątroby, co mogło w istotny sposób wpłynąć na wartość oznaczenia. Nie potwierdzono również ujemnej korelacji między stężeniem  $25(\text{OH})\text{D}$  a aktywnością FA. Dane z literatury wskazują iż dopiero długotrwałe jawne klinicznie lub subkliniczne niedobory witaminy  $\text{D}_3$  powodują przesunięcia w gospodarce wapniowo- fosforanowej, zatem pojedyncze oznaczenie bez długofalowej obserwacji retro- lub prospektywnej nie pozwala nam określić etapu procesu [111]. Badania oceniające zaopatrzenie organizmu w witaminę D, przeprowadzone w dużej grupie niemowląt, dzieci i dorosłych, którzy nie mieli cech klinicznych zaburzeń metabolizmu wapnia i nieprawidłowości szkieletu, wykazały ogólnoustrojowe niedobory witaminy D.

## 7. Wnioski

1. Niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D3 dotyczy około 1/3 populacji dzieci poniżej 3 r.ż. zamieszkujących na terenie miasta Poznania.
2. Na stopień zabezpieczenia dzieci w witaminę D3 najbardziej korzystny wpływ wydaje się mieć jej suplementacja u dziecka oraz zwiększone usłonecznienie.
3. Stężenie 25(OH)D wykazuje zmienność sezonową, związaną z większą ekspozycją na UVB w miesiącach o wyraźnie większym usłonecznieniu.
4. Stosowanie ochrony przeciwsłonecznej nie implikuje niedostatecznego zabezpieczenia w witaminę D3.
5. Stosowanie wody źródlanej zamiast wodociągowej nie ma wpływu na stężenie 25(OH)D w surowicy i gospodarkę wapniowo- fosforanową u dziecka. Stąd zalecanie stosowania wód mineralizowanych zamiast wody wodociągowej do przygotowania mieszanek modyfikowanych celem uzyskania wyższych stężeń 25(OH)D nie znajduje uzasadnienia.
6. Z uwagi na sposób żywienia dzieci, niewzbogacanie żywności w witaminę D, niski stopień usłonecznienia w Poznaniu w okresie od października do kwietnia oraz intensywny wzrost dziecka, suplementacja witaminy D po ukończeniu 1 roku życia jest uzasadniona i rekomendowana.
7. Krótkotrwałe niedostateczne zabezpieczenie w witaminę D3 ( 25(OH)D < 30ng/ml) nie implikuje poważnych zaburzeń w gospodarce wapniowo- fosforanowej u dzieci.

## 8. Streszczenie

Cholekalcyferol znany powszechnie jako witamina D3 zidentyfikowany w 1922r. przez McCollum'a był obiektem zainteresowania wielu badaczy zarówno w dziedzinie biochemii, fizjologii jak i naukach klinicznych. Odkrycie w 1974r. receptora dla witaminy D3 (VDR) z jego mnogą lokalizacją i w konsekwencji ustalenie mechanizmu działania witaminy D3, pozwoliło włączyć ją do superrodziny hormonów modulujących ekspresję genów. Podstawowym i najważniejszym pozostaje nadal kalcitropowe działanie witaminy D3, chroniące nas na różnych etapach życia przed krzywicą i osteoporozą. Nie bez znaczenia jest jednak jej działanie pozakostne. Udowodniono, iż jest ważnym regulatorem odpowiedzi immunologicznej, wpływając zarówno na zwiększenie odporności przeciwbakteryjnej, jak i wykazując działanie immunosupresyjne w chorobach o podłożu autoimmunologicznym. W zakresie układu sercowo- naczyniowego wpływ witaminy D3 może być bezpośredni na naczynia krwionośne poprzez efekt metaboliczny  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  wywierany na kardiomiocyty, mięśniówkę gładką i endometrium naczyń, ja również pośredni poprzez wpływ na procesy metaboliczne i układ RAA co w konsekwencji daje zmniejszenie ryzyka incydentów naczyniowo- sercowych i obniżenie ciśnienia tętniczego.

Udowodniono również pozytywny wpływ witaminy D3 na przebieg CD i CU, oraz istotny modulujący wpływ na przebieg SM, hamujący wpływ na procesy neurodegeneracyjne. Wieloletnie i wielośrodkowe obserwacje pozwoliły na udowodnienie wpływu witaminy D3 na przebieg nowotworów piersi, prostaty, jelita grubego, jajników i trzustki, poprzez modulowanie procesów mnożenia, różnicowania i apoptozy komórek nowotworowych.

W związku z radykalną zmianą naszych codziennych zwyczajów, ograniczającą w sposób istotny endogenne źródło witaminy D3 poprzez radykalnie ograniczoną ekspozycję na UVB, zwrócono uwagę na stopień naszego zabezpieczenia w tę witaminę. Liczne badania w wielu krajach wskazują na niedobór witaminy D3 w bardzo wysokim odsetku populacji we



wszystkich grupach wiekowych. Celem powyższej pracy było określenie realnego zaopatrzenia w witaminę D3 dzieci zamieszkujących miasto Poznań w wieku od 1 miesiąca życia do 3 roku życia. Analizę przeprowadzono całorocznie z uwzględnieniem czterech pór roku, w okresie od sierpnia 2015 do lipca 2016 roku. Badaniem objęto 200 dzieci hospitalizowanych w tym czasie w Oddziale Dzieci Młodszych SZOZ nad Matką i Dzieckiem w Poznaniu. Wyłączone zostały z badania dzieci o udokumentowanej wcześniej niewydolności wątroby lub nerek oraz udokumentowanych zaburzeniach gospodarki wapniowo- fosforanowej. U wszystkich dzieci włączonych do badania określano stężenie 25(OH)D, który jest kluczowym parametrem oceniającym stan zaopatrzenia organizmu w witaminę D, oraz parametry biochemiczne monitorujące gospodarkę Ca- P. Ponadto przeprowadzono badanie ankietowe wśród opiekunów dzieci, którego zadaniem było ustalenie sposobu żywienia i suplementowania dziecka, suplementowania matki w czasie ciąży i laktacji, oraz narażenia dziecka na czynniki potencjalnie ograniczające aktywność lub syntezę witaminy D3. W badaniu uczestniczyło 105 dzieci poniżej 1 roku życia, 64 dzieci w 2. roku życia i 31 dzieci w 3. roku życia, z czego dziewczynki w liczbie 85 i chłopcy w liczbie 115.

W przeprowadzonej analizie całorocznej stwierdzono niedobór witaminy D3 u 9,55% badanych, niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D3 (stężenie 25(OH)D w zakresie 20-30ng/ml) u 26,13% badanych, co sumarycznie daje wartość 35% badanych < 3 roku życia z miasta Poznania, u których stwierdzono niedobory witaminy D3. Wartości normatywne wykazano u 64,32% badanych dzieci.

Przy rozbiciu kwartalnym zgodnym z podziałem pór roku wyniki wykazują :

- zimą : niedobór witaminy D3 u 13,6% dzieci, niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D3 u 17,08% , optymalne zaopatrzenie w witaminę D3 u 69,3% dzieci
- wiosną: niedobór witaminy D3 u 10% dzieci, niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D3 u 27,76%, optymalne zaopatrzenie u 62,2% dzieci

- latem : niedobór witaminy D3 u 5,57% dzieci, niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D3 u 32,14%, optymalne zaopatrzenie u 62,32% dzieci

- jesienią: niedobór witaminy D3 u 8,75%, niedostateczne zaopatrzenie w witaminę D3 u 31,32%, optymalne zaopatrzenie u 59,9% dzieci.

Jako czynniki modulujące aktywność witaminy D3 analizowano sposób żywienia dzieci, ekspozycję na promieniowanie słoneczne, stosowanie fotoprotekcji, a co najważniejsze stosowanie suplementacji witaminy D3 na wszystkich etapach ( ciąża, laktacja, indywidualnie u dzieci). Dane dotyczące w/w czynników pozyskiwano z ankiet przeprowadzanych wśród opiekunów dziecka. Analiza danych potwierdziła spostrzeżenia innych badaczy, iż suplementacja witaminy D3 w trakcie laktacji zabezpiecza potrzeby własne matki karmiącej, bez istotnego wpływu na wartości stężeń 25(OH)D u dziecka. Nie wykazano również istotnych różnic w stężeniach 25(OH)D w grupach dzieci, których matki przyjmowały witaminę D3 w trakcie ciąży vs. matki które nie przyjmowały tejże witaminy. Podobnie w zakresie rodzaju wody używanej do przygotowania mieszanki mlecznej ( źródłana vs. wodociągowa) nie wykazano istotnej różnicy.

W zakresie ekspozycji na UVB istotnym wydaje się być spostrzeżenie, iż długość spacerów ma istotny wpływ na stężenie 25(OH)D jedynie w miesiącach o niskim wskaźniku usłonecznienia. Stosowanie fotoprotekcji lub jej brak przy zachowaniu suplementacji witaminy D3 nie wykazało istotnych różnic w stężeniach 25(OH)D.

Wnioskiem najistotniejszym wydaje się być fakt konieczności stosowania w naszej szerokości geograficznej dawki suplementacyjnej u dzieci do zakończenia wzrastania w okresie od października do kwietnia.

## 9. Abstract

Cholecalciferol well known as vitamin D, identified in 1922 by McCollum was an object of interest of many scientists in biochemistry, physiology and clinicians as well. Discovery of vitamin D receptor (VDR) in 1974 with its multiple localization and in consequence knowledge of vitamin D action mechanism, let us include this vitamin to superfamily of hormones modulating gene expression. Calcitropic actions of vitamin D<sub>3</sub> still seems to be basic and the most important, defending us from rickets and osteoporosis in each period of life. Its out of bones action is not without significance. It's proven that vitamin D is important regulator of immunological response, influencing on increase of antibacterial response and showing immunosuppressing action in autoimmune diseases, as well. In cardiovascular system could be direct impact of vitamin D on vessels by metabolic effect of 1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> in its endothelium, muscles and cardiomyocytes, and also indirect action modulating metabolic processes and RAAS in consequence reduce risk of cardiovascular incidents and decrease blood pressure.

It's also proven vitamin D positive impact on CD and CU course, profound modulating impact on SM course, inhibiting impact on neurodegenerative processes. Longtime and multicenter observations let prove vitamin D impact on breast cancer, prostate cancer, colon cancer, ovarian cancer and pancreatic cancer course, by modulating multiplication, differentiation and apoptosis of cancerous cells.

By reason of radical change of our quotidian habits, significative limiting endogenous source of vitamin D<sub>3</sub> by reduced UVB exposure, pointed our vitamin D coverage out. Numerous trials in many countries shows vitamin D deficiency in big rate of population in each age group. The objective of this thesis is to define real vitamin D coverage in children living in Poznań city, in age of 1 month to 3 years. Observation was conducted all over the year in period : from august 2015 to july 2016, regarding to four seasons.

200 children involved in this research were hospitalized in this time in Younger Children Ward in St. Joseph Hospital in Poznań. Excluded from the trial were children with documented earlier liver or kidney insufficiency, or calcium-phosphorus balance disorders.

In all children included in this trial assay 25(OH)D concentration, which is a key parameter for monitoring vitamin D status and biochemical parameters of calcium-phosphorus balance. Moreover, a parent survey was made to determine the mode of child nutrition and child supplementation, mother supplementation during pregnancy and lactation period, children's exposure to factors potentially limiting vitamin D synthesis.

In this trial, 105 children beyond 1 year of life, 64 children in 2 years of life and 31 children in 3 years of life, girls in number 85 and boys in number 115.

In a year-long study, vitamin D deficiency was verified in 9.5% of participants, suboptimal supply in vitamin D (concentrations of 25(OH)D ranging from 20 to 30 ng/ml) in 26.13% of participants, which gives us an accumulated value of 35% of children under 3 years old from Poznań city with vitamin D deficiency.

Normative 25(OH)D concentration was found in 64.32% of included children.

In a quarterly partition according to seasons, the results show:

- in winter: vitamin D deficiency in 13.6% of children, suboptimal supply in 17.08%, optimal supply in vitamin D in 69.3% of children;
- in spring: vitamin D deficiency in 10% of children, suboptimal supply in 27.76% and optimal supply in vitamin D in 62.2% of children;
- in summer: vitamin D deficiency in 5.57% of children, suboptimal supply in 32.14% and optimal supply in vitamin D in 62.32% of children;
- in autumn: vitamin D deficiency in 8.75% of children, suboptimal supply in 31.32% and optimal supply in vitamin D in 59.9% of children. Factors modulating vitamin D activity as mode of nutrition, sunlight exposure, photoprotection and what the most

important applying vitamin D supplementation in every phase ( gestation, lactation, individually in children) were analysing on datas from parents survey.

Datas analysis confirmed others investigators observations, that vitamin D supplementation in time of lactation cover only her own needs without any impact on child's 25(OH)D concentration . The study doesn't confirmed significant differences in two groups of children: mothers applying supplementation of vitamin D in time of gestition vs. mothers without applying it. Similary in case of kind of water using to prepare milk formula ( water mains vs. bottled mineral water) there were no substantial differences.

As far as UVB exposure an observation seems to be important: walk lasting has significant impact on 25(OH)D concentration generally in months with low insolation index. Fotoprotection (SPF) with applying vitamin D supplementation hasn't significant impact on 25(OH)D concentration.

Necessity of vitamin D supplementation in our longitude in period from october to april in children up to adolescence seems to be the most important conclusion.

## 10. Piśmiennictwo

- [1] Abrams SA, Hawthorne KM, Chen Z. Supplementation with 1000 IU vitamin D/d leads to parathyroid hormone suppression, but not increased fractional calcium absorption, in 4-8-y-old children: a double-blind randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2013;97:217–23.
- [2] Aloia JF. The report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? *Journal of Endocrinology and Metabolism* 2011 96 2987–2996. (doi:10.1210/jc.2011-0090)
- [3] Andersen R., Molgaard C., Skovogaard L. i wsp.: Teenage girls and elderly women living in northern Europe have low winter vitamin D status. *Eur.J.Clin.Nutr.*2005; 59:533- 541.
- [4] Andress D: Nonclassical aspects of differential vitamin D receptor activation: Implications for survival in patients with chronic kidney disease. *Drugs* 67: 1999 –2012, 2007
- [5] Anuszevska E.L. Nowe spojrzenie na witaminę D.GF, 02.2011.
- [6] Atkins GJ, Findlay DM, Anderson PH et al.: Target Genes: Bone Proteins. In *Vitamin D*. Edited: Feldman D. Pike JW, Adams JS. Academic Press 2011; 411-424.
- [7] Agata Wawrzyniak, Ilona Mincer-Chojnacka, Bolesław Kalicki, Agnieszka Lipińska-Opalka, Katarzyna Jobs, Andrzej Stelmasiak; Plejotropowe działanie witamin D i K. *Pediatr Med Rodz* 2015, 11 (4), p. 374–381 DOI: 10.15557/PiMR.2015.0035
- [8] Barake M, Daher RT, Salti I, Cortas NK, Al-Shaar L, Habib RH & Fuleihan Gel-H. 25-hydroxyvitamin D assay variations and impact on clinical decision making. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2012 97 835–843. (doi:10.1210/jc.2011-2584)
- [9] Bhattoa H., Bettembuk P., Ganacharya S. i wsp. : A prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal women.*Osteoporos. Int.* 2004; 15: 447- 451.
- [10] Binkley N & Sempos CT. Standardizing vitamin d assays: the way forward. *Journal of Bone and Mineral Research* 2014 29 1709–1714. (doi:10.1002/jbmr.2252)
- [11] Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84:18–28. [PubMed: 16825677]
- [12] Bogołowska-Stiebllich, Tałaj M.: The role of vitamin D in the diseases of cardiovascular system. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25: 252-257
- [13] Bouillon R, Van Schoor NM, Gielen E, Boonen S, Mathieu C, Vanderschueren D & Lips P. Optimal vitamin D status: a critical analysis on the basis of evidence-based medicine. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2013 98 E1283–E1304. (doi:10.1210/jc.2013-1195)
- [14] Brewer LD, Thibault V, Chen KC et al.: Vitamin D hormone confers neuroprotection in parallel with downregulation of L-type calcium channel expression in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2001; 21: 98–108.
- [15] Brown AJ: Regulation of vitamin D action (editorial). *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14, 11.

- [16] Burgaz A, Akesson A, Oster A, Michaelsson K, Wolk A. Associations of diet, supplement use and ultraviolet B radiation exposure with vitamin D status in Swedish women during winter. *Am J Clin-Natur.* 2007;86: 1399-1404.
- [17] Carter GD. Accuracy of 25-hydroxyvitamin D assays: confronting the issues. *Current Drug Targets* 2011/ 12 19–28. (doi:10.2174/ 138945011793591608)
- [18] Carter GD. 25-hydroxyvitamin D: a difficult analyte. *Clinical Chemistry* 2012 58 486–488. (doi:10.1373/clinchem.2011.180562)
- [19] Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z, Gonzalez-Gross M, Valtueña J I wsp. Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr* 2016;103(4):1033–1044 [doi: 10.3945/ajcn.115.120873]
- [20] Chandra P, Wolfenden L., Ziegler T., Tian J., Luo M., Stecenko A., Chen T., Holick M.F., Tangpricha V.: Treatment of vitamin D deficiency with UV light in patients with malabsorption syndromes: a case series. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2007, 23, 179-185.
- [21] Chlebna- Sokół D., Golec J, Karalus J, Halaba Z, Karczmarewicz E, Konstatynowicz J, Dobrzańska A. The assesment of the vitamin D supply in the population of polish children at the age 9-12 years: multicenter research:preliminary report.*Bone.Abstr.*2013;2:104.
- [22] Correale J., Ysrraelit M.C., Gaitán M.I.: Immunomodulatory effects of vitamin D in multiple sclerosis. *Brain*, 2009; 132: 1146-1160
- [23] Correale J., Ysrraelit M.C., Gaitán M.I.: Vitamin D-mediated immune regulation in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 2011; 311; 23-31
- [24] Czerwiński E., Borowy P., Kumorek A.: Witamina D a układ mięśniowo-szkieletowy. *Stand. Med.*, 2012; 9: 649-654
- [25] Czech-Kowalska J, Latka-Grot J, Bulsiewicz D, Jaworski M, Pludowski P i wsp. Impact of vitamin D supplementation during lactation on vitamin D status and body composition of mother-infant pairs: a MAVID randomized controlled trial. *PLoS One* 2014;18;9(9):e107708 [doi: 10.1371/journal.pone.0107708]
- [26] D'Ambrosio D., Cippitelli M., Cocciolo M.G., Mazzeo D., Di Lucia P., Lang R., Sinigaglia F., Panina- Bordignon P.: Inhibition of IL-12 Production by 1,25-Dihydroxyvitamin D3. Involvement of NF-kappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J. Clin. Invest.*, 1998, 101(1), 252-262.
- [27] DeLuca H.F., Overview of general physiologic features and functions of vitamin D, *M.j.Clin.Nutr.*,2004;80:1689S-96S
- [28] Dusso A.S., Brown A.J., Slatopolsky E.: Vitamin D. *Am. J. Physiol.Renal. Physiol.*, 2005; 289: F8-F28
- [29] Dytfeld,J.; Horst- Sikorska, W. Witamina D- co poza działaniem na szkielet? *Przegląd Menopauzalny* 2013; 17(5):409- 417.
- [30] Farrell CJL, Martin S, McWhinney B, Straub I, Williams P, Herrman M: State-of- the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography–tandem mass spectrometry methods. *Clin Chem* 2012, 58:531–542.

- [31] Ferguson J.H., Chang A.B.: Vitamin D supplementation for cystic brosis. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2014; 5: CD007298
- [32] Fernandes de Abreu DA, Eyles D, Féron F: Vitamin D, a neuroimmunomodulator: implications for neurodegenerative and autoimmune diseases. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34 (Suppl 1): S265–S277.
- [33] Garland CF, Garland FC, Gorham ED, et al. The role of vitamin D in cancer prevention. *Am J Public Health.* 2006; 96(2):252–61. [PubMed: 16380576]
- [34] Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Upper Respiratory Tract Infection in The Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med.* 2009; 169(4):384–390. [PubMed: 19237723]
- [35] Ginde A.A., Mansbach J.M., Camargo C.A.: Vitamin D, respiratory infections, and asthma. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2009; 9: 81-87
- [36] Gnagnarella P, Pasquali E, Serrano D et al. Vitamin D receptor polymorphism FokI and cancer risk: a comprehensive meta-analysis [J]. *Carcinogenesis.* 2014, 35(9): 1913-1919.
- [37] Gruber B.M., Fenomen witaminy D. *Postępy Med Hig Dosw( on line)*;2015; tom 69,127- 139.
- [38] Haddad JG, Matsuoka LY, Hollis BW, et al. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J Clin Invest.* 1993; 91:2552–2555. [PubMed: 8390483]
- [39] Heaney, R.P.; Armas, L.A.; French, C. All-Source basal vitamin D inputs are greater than previously thought and cutaneous inputs are smaller. *J. Nutr.* 2013, 143, 571–575.
- [40] Hilger, J.; Friedel, A.; Herr, R.; Rausch, T.; Roos, F.; Wahl, D.A.; Pierroz, D.D.; Weber, P.; Hoffmann, K. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *Br. J. Nutr.* 2014, 111, 23–45.
- [41] Hill T., McCarthy D., Jakobsen J. i wsp.: Seasonal changes in vitamin D status and bone turnover in healthy Irish postmenopausal women. *Int.J.Vitam.Nutr.Res.*2007; 77:320-325.
- [42] Holick M.F.: Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, 80, 1678-1688.
- [43] Holick MF: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007, 357:266–281.
- [44] Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity.* 2002; 9(1):87–98.
- [45] Holick MF. Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol* 2009;19:73–8.
- [46] Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006; 116(8):2062–2072. [PubMed: 16886050]
- [47] Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Eng J Med.* 2007; 357:266–281.
- [48] Holick MF. Vitamin D and Health: Evolution, Biologic Functions, and Recommended Dietary Intakes for Vitamin D. *Clin Rev Bone Miner Metab.* 2009; 7(1):2–19.
- [49] Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 2017;18(2):153–165 [doi: 10.1007/s11154- 017-9424-1]



- [50] Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC, et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93(3):677–681. [PubMed: 18089691]
- [51] Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM & Endocrine Society . Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011 96 1191–1930. (doi:10.1210/jc.2011-0385)
- [52] Holick MF, Chen TC, Sauter ER. Vitamin D and Skin Physiology: A D-Lightful Story. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(S2):V28–V33. [PubMed: 18290718]
- [53] Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Age, Vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet.* 1989:104–110. [PubMed: 2572832]
- [54] Holick M.F. Schnoes H.K., DeLuca H.F., Suda T., Cousins R.J.: Isolation and identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol a metabolite of vitamin D active in intestine. *Biochem.*, 1971;10:2799–804
- [55] Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D.* Eds AC Ross, CL Taylor, AL Yaktine, HB Del Valle. Washington, DC, USA: National Academies Press, 2011.
- [56] Jones G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(Suppl):582S–6S.
- [57] Jones G.: Vitamin D safety: its mechanisms and application. *Stand. Med.*, 2012; 9: 605-609
- [58] Jorde R, Sneve M, Hutchinson M, Emaus N, Figenschau Y & Grimnes G. Tracking of serum 25-hydroxyvitamin D levels during 14 years in a population-based study and during 12 months in an intervention study. *American Journal of Epidemiology* 2010 171 903–908.
- [59] Kalina M, Małeczka-Tendera E. Zaburzenia gospodarki wapniowo-foforanowej. W: *Endokrynologia kliniczna.* Wydawnictwo Polskie Towarzystwo Endokrynologiczne, Wrocław 2012, 279–296
- [60] Karagüzel G, Dilber B, Çalan G, Ökten A, Deger O, Holick MF. Seasonal vitamin D status of healthy schoolchildren and predictors of low vitamin D status. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:654–60.
- [61] Karnchanasorn R., Ou H.Y., Chiu K.C.: Plasma 25-hydroxyvitamin D levels are favorably associated with  $\beta$ -cell function. *Pancreas*, 2012; 41: 863-868
- [62] Kfoczyńska M., Kucharska A., Sińska B., Rola witaminy D w stwardnieniu rozsianym. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2015; 69: 440-446 e-ISSN 1732-2693.
- [63] Kienreich K., Grübler M., Tomaschitz A., Schmid J., Verheyen N., Rutters F., Dekker J.M., Pilz S.: Vitamin D, arterial hypertension & cerebrovascular disease. *Indian J. Med. Res.*, 2013; 137: 669-679
- [64] Kilbane MT, O’Keane M, Morrin M, Flynn M & McKenna MJ. The double-edged sword of vitamin D in Ireland: the need for public health awareness about too much as well as too little. *Irish Journal of Medical Science* 2014 183 485–487. (doi:10.1007/s11845-014-1147-7)
- [65] Kosińska J, Billing-Marczak K, Krotkiewski M: Nowe nieznanne funkcje witaminy D. *Medycyna Rodzinna* 2008; (2): 34–47.

- [66] Kotulska K., Bilaska M.: Witamina D a stwardnienie rozsiane. *Stand. Med.*, 2012; 9: 626-629
- [67] Koutkia P, Chen TC, Holick MF. Vitamin D Intoxication Associated with an Over-the-Counter Supplement. *N Engl J Med.* 2001; 345(1):66–67. [PubMed: 11439958]
- [68] Kuźmińska M.: Witamina D a układ oddechowy. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25; 241-246
- [69] Lee JM, Smith JR, Philipp BL, et al. Vitamin D deficiency in a healthy group of mothers and newborn infants. *Clin Pediatr.* 2007; 46:42–44.
- [70] Lin R., White J.H.: The pleiotropic actions of vitamin D. *BioEssays*, 2008, 26, 21-28.
- [71] Lips P , Chapuy MC , Dawson-Hughes B , Pols HA , Holick MF 1999 An international comparison of serum 25-hydroxyvitamin D measurements. *Osteoporos Int* 9:394–397
- [72] Looker AC, Pfeiffer CM, Lacher DA, Schleicher RL, Picciano MF & Yetley EA. Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988–1994 compared with 2000–2004. *American Journal of Clinical Nutrition* 2008 88 1519–1527. (doi:10.3945/ajcn.2008.26182)
- [73] Lorenc R.S., Karczarewicz E., Kryśkiewicz E., Płudowski P.: Zasady suplementacji i standardy oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D w świetle jej działania plejotropowego. *Stand. Med.*, 2012; 9: 595-604
- [74] Łukaszewicz J.:Witamina D: metabolizm i działanie. *OsteoForum, Serwis Medyczny*, 8/2004
- [75] Łukaszewicz J. Vitamin D – skin synthesis revisited. Nowe spojrzenie na syntezę skórną witaminy D. *Post N Med.* 2016;29(10): 747–749
- [76] Maestro B., Daá vila N., Carranza M.C., Calle C.: Identification of a vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2003; 84: 223-230
- [77] Maguire JL, Birken CS, Khovratovich M, Degroot J, Carsley S, Thorpe KE, Mamdani M, Parkin PC; TARGet Kids! Collaboration. Modifiable determinants of serum 25-hydroxyvitamin d status in early childhood: opportunities for prevention. *JAMA Pediatr* 2013;167:230–5.
- [78] Mansbach JM, Ginde AA, Camargo CA. Serun 25-Hydroxyvitamin D Levels Among US Children Aged 1 to 11 Years: Do Children Need More Vitamin D? *Pediatrics.* 2009; 124:1404–1410. [PubMed: 19951983]
- [79] Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin J, et al. Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987; 64:1165–1168. [PubMed: 3033008]
- [80] Marcinowska-Suchowierska E.: Leczenie deficytów witaminy D u osób dorosłych w grupach ryzyka – “terapia szyta na miarę”. *Stand. Med.*, 2012; 9: 716-721
- [81] Martins D., Wolf M., Pan D., Zadshir A., Tareen N., Thadhani R., Felsenfeld A., Levine B., Mehrotra R., Norris K.: Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch. Intern. Med.*, 2007; 167: 1159-1165
- [82] McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *American Journal of Medicine* 1992 9369–77. (doi:10.1016/0002-9343(92)90682-2)
- [83] McKenna MJ, Freaney R, Meade A & Muldowney FP. Hypovitaminosis D and elevated serum alkaline phosphatase in elderly Irish people. *American Journal of Clinical Nutrition* 1985 41 101–109.

- [84] Michałus I, Fijałkowski B, Łupińska A et al. Ocena stanu zaopatrzenia w witaminę D3 dzieci łódzkich w wieku 9-15 lat. *Prz.Pediatr.*2013;43(2):74-81.
- [85] Misiorowski W.: Witamina D a cukrzyca typu 1 i 2 w wieku dojrzałym. *Stand. Med.*, 2012; 9: 639-644
- [86] Misra M, Pacaud D, Petryk A et al. Vitamin D deficiency in children and its management : review of current knowledge and recommendation. *Pediatrics.*2008;122:398.
- [87] Mitri J., Dawson-Hughes B., Hu F.B., Pittas A.G.: Effects of vitamin D and calcium supplementation on pancreatic  $\beta$  cell function, insulin sensitivity, and glycemia in adults at high risk of diabetes: the calcium and vitamin D for diabetes mellitus (CaDDM) randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2011; 94: 486-494
- [88] Moukayed M., Grant W.B.: Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrients*, 2013; 5: 3993-4021
- [89] Mozolowski W. 1939. Jędrzej Śniadecki( 1768- 1838)on the cure of rickets. *Nature.* 143:121- 122
- [90] Munns CF, Simm PJ, Rodda CR, Garnett SP, Zacharin MR, Ward LM, Geddes J, Cherian S, Zurynski Y, Cowell CTY, APSU Vitamin D Study Group: Incidence of vitamin D deficiency rickets among Australian children: an Australian Paediatric Surveillance Unit study. *Med J Australia* 2012, 196:466–468.
- [91] Munns CF, Shaw N, Kiely M, et al. Global Consensus Recommendations on prevention and management of nutritional rickets. *J Clin Endocrinol Metab.*2016; 101: 394- 415.
- [92] Norman A.W.: From vitamin D to hormone: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am. J. Clin.Nutr.*, 2008; 88: 491S-499S
- [93] Norman A.W., History of vitamin D. University of California,2011.
- [94] Novakovic B, Galati JC, Chen A, Morley R, Craig JM, Saffery R: Maternal vitamin D predominates over genetic factors in determining neonatal circulating vitamin D concentrations. *Am J Clin Nutr* 2012, 96:188–195.
- [95] Pappa H.M., Mitchell P.D., Jiang H., Kassi S., Filip-Dhima R., Di- Fabio D., Quinn N., Lawton R.C., Varvaris M., Van Straaten S., Gordon C.: Treatment of vitamin D insufficiency in children and adolescents with inflammatory bowel disease: a randomized clinical trial comparing three regimens. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: 2134-2142
- [96] Perzanowska-Brzeszkiewicz K., Marcinowska-Suchowierska E.: Witamina D a choroby przewodu pokarmowego. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25: 247-251
- [97] Pietras SM, Holick MF. Vitamin D Supplementation. Comments and Opinions. *Arch Intern Med.*2010; 170(6):572–573. [PubMed: 20308646]
- [98] Pignotti, G.A.P.; Genaro, P.S.; Pinheiro, M.M.; Szejnfeld, V.L.; Martini, L.A. Is a lower dose of vitamin D supplementation enough to increase 25(OH)D status in a sunny country? *Eur. J. Nutr.* 2010, 49, 277–283.
- [99] Płudowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, Povoroznyuk V, Balatska N, Barbosa AP, Karonova T, Rudenka E, Misiorowski W, Zakharova I, Rudenka A, Łukasiewicz J, Marcinkowska- Suchowierska E, Łaszczyńska, Abramowicz P, Bhattoa HP, Wimalawansa

SJ. Vitamin D supplementation guidelines. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2018;175(1): 125- 135.

[100] Płudowski P., Karczmarewicz E., Bayer M., Carter G., Chlebna-So- kół D., Czech-Kowalska J., Dębski R., Decsi T., Dobrzańska A., Franek E., Głuszko P., Grant W.B., Holick M.F., Yankovskaya L., Konstantynowicz J. i wsp.: 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.*, 2013; 64: 319-327

[101] Płudowski P, Karczmarewicz E, Bayer M et al. Practical guidelines for the supplementation of vitamin D3 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.* 2013;64(4):319-327.

[102] Płudowski P., Karczmarewicz E., Czech-Kowalska J., Kryśkiewicz E., Skorupa E., Dobrzańska A., Gruszczyński D., Łukaszewicz J., Lorenc R.S.: Nowe spojrzenie na suplementację witaminą D. *Standardy Med. Pediaatria*, 2009, 6, 23-41.

[103] Płudowski P., Kryśkiewicz E., Karczmarewicz E.: Zasady suplementacji i standardy oceny zaopatrzenia organizmu w witaminę D w świetle jej działania plejotropowego. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25: 265-272

[104] Rajakumar K.: Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics*, 2003, 112(2), e132-135.

[105] Rich-Edwards JW, Ganmaa D, Kleinman K, Sumberzul N, Holick MF, Lkhagvasuren T, Dulguun B, Burke A, Frazier AL. Randomized trial of fortified milk and supplements to raise 25-hydroxyvitamin D concentrations in schoolchildren in Mongolia. *Am J Clin Nutr* 2011;94:578– 84

[106] Ross A.C., Manson J.E., Abrams S.A., Aloia J.F., Brannon P.M., Clinton S.K., Durazo-Arvizu R.A., Gallagher J.C., Gallo R.L., Jones G., Kovacs C.S., Mayne S.T., Rosen C.J., Shapses S.A.: The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011; 96: 53-58

[107] Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL & Jones G. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011 96 53–58. (doi:10.1210/jc.2010-2704)

[108] Rovner A.J., Stallings V.A., Schall J.I., Leonard M.B., Zemel B.S.: Vitamin D deficiency in children, adolescents, and young adults with cystic fibrosis despite routine oral supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007; 86: 1694-1699

[109] Sajkowska JJ, Paradowska K. Wielokierunkowe działanie witaminy D. *Biul. Wydz. Farm. WUM*, 2014,1, 1-6

[110] Samochocki Z.: Czy witamina D ma wpływ na rozwój i przebieg atopowego zapalenia skóry? *Stand. Med.*, 2012; 9: 623-625

[111] Sheikh, M.; Ramirez, A.; Emmett, M.; Santa, A.; Schiller, L.R. Role of Vitamin D-dependent and Vitamin D-independent Mechanisms in Absorption of Food Calcium. *J. Clin. Invest.* 1988, 81, 126-132.

[112] Smolders J., Thewissen M., Peelen E., Menheere P., Tervaert J.W., Damoiseaux J., Hupperts R.: Vitamin D status is positively correlated with regulatory T cell function in patients with multiple sclerosis. *PLoS One*, 2009; 4: e6635

- [113] Socha P.: Witamina D w chorobach przebiegających z zaburzeniami wchłaniania (mukowiscydoza, cholestaza, nieswoiste zapalenie jelit). *Stand. Med.*, 2012; 9: 655-658
- [114] Stockl D, Sluss PM & Thienpont LM. Specifications for trueness and precision of a reference measurement system for serum/plasma 25-hydroxyvitamin D analysis. *Clinica Chimica Acta* 2009 408 8–13. (doi:10.1016/j.cca.2009.06.027)
- [115] Szalecki M., Lech M., Malinowska A.: Witamina D w cukrzycy typu 1 i 2 oraz w endokrynopatiach wieku rozwojowego. *Stand. Med.*, 2012; 9: 633-638
- [116] Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L & Ioannidis JPA. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ* 2014 348 g2035. (doi:10.1136/bmj.g2035)
- [117]. Tsoukas C., Provvedini D., Manolagas S.: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> : A Novel Immunoregulatory Hormone *Science*, 1984, 224(4656), 1438-1440.
- [118] Urashima M, Segawa T, Okazaki M, et al. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91:1255–60. [PubMed: 20219962]
- [119] Vanstone MB, Oberfield SE, Shader L, Ardeshirpour L & Carpenter TO. Hypercalcemia in children receiving pharmacologic doses of vitamin D. *Pediatrics* 2012 129 e1060–e1063. (doi:10.1542/peds.2011-1663)
- [120] Vieth R, Chan PCR, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D<sub>3</sub> intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73:288–294. [PubMed: 11157326]
- [121] Vogiatzi MG, Jacobson-Dickman E & DeBoer MD. Vitamin D supplementation and risk of toxicity in pediatrics: a review of current literature. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2014 99 1132–1141. (doi:10.1210/jc.2013-3655)
- [122] Wagner CL, Greer FR, The Section on Breastfeeding and Committee on Nutrition. Prevention of Rickets and Vitamin D Deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2008; 122:1142–1152. [PubMed: 18977996]
- [123] Walicka M., Czerwińska E., Marcinowska-Suchowierska E.: Witamina D - wpływ na kość. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25: 232-236
- [124] Wąsowski M., Czerwińska E., Marcinowska-Suchowierska E.: Otyłość – stan predysponujący do niedoborów witaminy D. *Postępy Nauk Med.*, 2012; 25: 258-264
- [125] Walicka M, Marcinkowska- Suchowierska E. Wpływ niedoboru witaminy D w czasie ciąży I laktacji na matkę I dziecko. *Postępy Nauk Medycznych* 2010; 5:
- [126] Waterhouse, M.; Tran, B.; Armstrong, B.K.; Baxter, C.; Ebeling, P.R.; English, D.R.; GebSKI, V.; Hill, C.; Kimlin, M.G.; Lucas, R.M.; et al. Environmental, personal, and genetic determinants of response to vitamin D supplementation in older adults. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014, 99, E1332–E1340.
- [127] Webb AR, Engelsen O. Ultraviolet exposure scenarios: risks of erythema from recommendations on cutaneous vitamin D synthesis. *Adv Exp Med Biol* 2014;810:406–22.

- [128] Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D<sub>3</sub>: Exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D<sub>3</sub> synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 67:373–378. [PubMed: 28395]
- [129] Webb AR. Who, what, where and when – influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92: 17-25.
- [130] Whiting SJ, Bonjour JP, Payen FD & Rousseau B. Moderate amounts of vitamin D<sub>3</sub> in supplements are effective in raising serum 25-hydroxyvitamin D from low baseline levels in adults: a systematic review. *Nutrients* 2015 7 2311–2323. (doi:10.3390/nu7042311)
- [131] Susan J Whiting, Jean-Philippe Bonjour, Flore Dontot Payen, Brigitte Rousseau. Moderate Amounts of Vitamin D<sub>3</sub> in Supplements are Effective in Raising Serum 25-Hydroxyvitamin D from Low Baseline Levels in Adults: A Systematic Review. *Nutrients* 2015, 7, 2311-2323; doi:10.3390/nu7042311
- [132] Wicha Jerzy. Droga pod słońce. Wczesna historia witaminy D. *Wiadomości Chemiczne* 2012, 66, 7-8. PL SSN 0043-5104
- [133] Wolpowitz D, Gilchrist BA. The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it? *J Am Acad Dermatol.* 2006; 54:301–317. [PubMed: 16443061]
- [134] Yakoob MY1, Salam RA, Khan FR, Bhutta ZA. Vitamin D supplementation for preventing infections in children under five years of age. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016 Nov 9;11:CD008824.
- [135] Zhang R, Naughton DP: Vitamin D in health and disease: Current perspectives. *Nutr J* 2010, 9:65.
- [136] Armin Zittermann. Serum 25-hydroxyvitamin D response to oral vitamin D intake in children *Am J Clin Nutr* September 2003 vol. 78 no. 3 496-497
- [137] Zasady suplementacji i leczenia witaminą D-nowelizacja 2018r., *Postępy Neonatologii* 2018, 24(1)
- [138] Zdrojewicz Z, Chruszczewska E, Miner M: Wpływ witaminy D na organizm człowieka. *Med Rodz* 2015; 2(18): 61-66.
- [139] Walicka M., Jasik A., Paczyńska M., Wąsowski M., Tatałaj M., Marcinkowska- Suchowierska E. Niedobór witaminy D- problem społeczny. *Postępy Nauk Medycznych.* 2008; 3: 14- 22.
- [140] Kuryłowicz Alina, Bednarczuk Tomasz, Nauman Janusz. Wpływ niedoboru witaminy D na rozwój nowotworów i chorób autoimmunologicznych. *Endokrynologia Polska* 2007,58; 2. ISSN 0423–104X
- [141] Katarzyna Perzanowska-Brzeszkiewicz, Ewa Marcinowska-Suchowierska. Witamina D a choroby przewodu pokarmowego. *Postępy Nauk Medycznych*, 2012; t. XXV, nr 3.
- [142] ] Kamei Y., Kawada T., Kazuki R., Ono T., Kato S., Sugimoto E.: Vitamin D receptor gene expression is up-regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in 3T3-L1 preadipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993; 193: 948-955
- [143] Bogdan Stefanowski, Anna Antosik-Wójcińska, Łukasz Świącicki. Wpływ niedoboru witaminy D<sub>3</sub> na poziom nasilenia objawów depresyjnych. *Przegląd aktualnych badań. Postępy Nauk Medycznych*, t. XXV, nr 3, 2012

- [144] Czech-Kowalska J. Vitamin D in preterm infants In: Watson RR, Mahadevan D, editors. Handbook of nutrition and diet in therapy of bone diseases. Human health handbooks. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2016. p. 233–246
- [145] Ewa Otto-Buczowska, Artur Chwalba. Witamina D w zaburzeniach metabolizmu glukozy. Forum Medycyny Rodzinnej 2017, tom 11, nr 2, 47–53
- [146] Bournalon P.M., Billaudel B., Faure-Dussert A.: Influence of vitamin D3 deficiency and 1,25 dihydroxyvitamin D3 on de novo insulin biosynthesis in the islets of the rat endocrine pancreas. J. Endocrinol., 1999; 160: 87-95
- [147] Bolland MJ, Grey AB, Ames R., Mason BH, Horne AM, Gamble GD.:The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. The American Journal of Clinical Nutrition, Volume 86, Issue 4, October 2007, 959-964.
- [148] Lucas JA, Bolland MJ, Grey AB, et al.. Determinants of vitamin D status in older women living in a subtropical climate. Osteoporos Int 2005;16:1641-8.
- [149] Yorifuji J, Yorifuji T, et al.. Craniotabes in Normal Newborns: The Earliest Sign of Subclinical Vitamin D Deficiency. The Journal of Clinical Endocrinology&Metabolism 2008; Volume 93:5:1784-1788.
- [150] Comargo CA Jr, Rifas- Shiman SL, Litonjua AA, et al..Maternal intake of vitamin D during pregnancy and risk of recurrent wheeze at 3y of age. Am J Clin Nutr 2007; 85:788-95.
- [151] Chlebna-Sokół D, Michałus I, Rusińska A I wsp..Ocena stężenia witaminy D w surowicy u dzieci hospitalizowanych z powodu objawów sugerujących zaburzenia w układzie kostnym. Endokrynologia Pediatria 2016; 15.4.57: 23-32.  
DOI: 10.18544/EP-01.15.04.1653.
- [152] Wojtała M, Obuchowicz A, Kaźmierczak-Pilch B, Łoboda M, Jarecka B. Realizacja wytycznych podaży witamin D i K w populacji niemowląt mieszkających w środowisku miejskim na Górnym Śląsku, w różnym czasie od ich wprowadzenia. Annales Academiae Medicae Silensiensis 2014; 68(2): 137-144.
- [153] Rowicka G, Strucińska M, Amroszkiewicz J. Status witaminy D u dzieci z alergią na białka mleka krowiego. Medycyna Wieku Rozwojowego 2012; 16(4):307-312.
- [154] Rowicka G, Klemarczyk W, Dyląg H, Riahi A. Czy dzieci z alergią na białka mleka krowiego stanowią grupę ryzyka niedoboru witaminy D? Problemy Higieny I Epidemiologii 2017; 98(1):47-52.
- [155] Hollis BW, Wagner CL. Vitamin D requirements during lactation: high- dose maternal supplementation as therapy to prevent hypovitaminosis D for both the mother and the nursing infant. AmJClinNutr 2004; 80(suppl):1752S-1758S.
- [156] Czech-Kowalska J. Vitamin D in preterm infants In: Watson RR, Mahadevan D, editors. Handbook of nutrition and diet in therapy of bone diseases. Human health handbooks. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2016. p. 233–246

## Załącznik – Ankieta

### WYWIAD DOTYCZĄCY NIEJAWNEGO LUB JAWNEGO NIEDOBORU WITAMINY D3 U NIEMOWLĄT I DZIECI DO LAT 3.

#### DANE DOTYCZĄCE CIAŻY

- która ciąża.....
- czas trwania ciąży.....
- masa urodzeniowa dziecka.....

#### CZY W CZASIE CIAŻY BYŁA POBIERANA WITAMINA D?

- NIE
- TAK../ NAZWA PREPARATU.....

#### CZAS POBIERANIA WITAMINY D W CZASIE CIAŻY;

- przez całą ciążę
- tylko II i III trymestr
- tylko III trymestr
- nie pamiętam

#### SPOSÓB ŻYWIENIA DZIECKA W 1 ROKU ŻYCIA:

- NATURALNY ( od..... do.....)
- SZTUCZNY ( od ..... do.....)  
- rodzaj mieszanki modyfikowanej.....
- MIESZANY ( od ..... do.....)  
- rodzaj mieszanki modyfikowanej.....

#### CZY W CZASIE LAKTACJI POBIERANA BYŁA WITAMINA D3?

- NIE
- TAK
- czas pobierania .....
- nazwa preparatu.....

#### CZY W 1-YM ROKU ŻYCIA DZIECKU PODAWANO WITAMINĘ D3?

- NIE/ DLACZEGO?.....
- TAK
- w jakiej dawce.....
- nazwa preparatu.....
- czas podawania.....

#### SPOSÓB ŻYWIENIA DZIECKA W 2-IM ROKU ŻYCIA

- NATURALNY.....
- MIESZANKA MODYFIKOWANA
- nazwa mieszanki.....



- ilość spożywana / dobę.....

CZY W 2-IM ROKU ŻYCIA DZIECKU PODAWANO WITAMINĘ D?

- NIE
- TAK

- wielkość dawki.....  
- nazwa preparatu.....  
- czas podawania.....

SPOSÓB ŻYWIENIA W 3-IM ROKU ŻYCIA DZIECKA

- NATURALNY
- MIESZANKA MODYFIKOWANA

- nazwa mieszanki.....  
- ilość spożywana/ dobę .....  
■ MLEKO KROWIE

CZY W 3-IM ROKU ŻYCIA DZIECKU PODAWNO WITAMINĘ D?

- NIE
- TAK

- wielkość dawki.....  
- nazwa preparatu.....  
- czas podawania.....

CZY ISTNIEJE MOŻLIWOŚĆ CODZIENNYCH SPACERÓW?

- NIE
- TAK

- jak często/ tydzień?.....  
- jak długi spacer?.....  
- czy latem wystawiane jest dziecko na słońce?.....

CZY LATEM STOSOWANA JEST OCHRONA PRZECIWSŁONECZNA?

- NIE
- TAK

- czy tylko w pierwszym roku życia?.....

CZY OBSERWOWANO OBJAWY SUGERUJĄCE NIEDOBÓR WITAMINY D3?

- NIE
- TAK/ JAKIE

- nadmierna potliwość.....  
- ogniska rozmiękania potylicy.....  
- nadmierne spłaszczenie potylicy.....  
- opóźnione pojawienie się jąder kostnienia głowy kości udowej.....  
- opóźnione żąbkowanie.....  
- opóźnione zarastanie ciemienia przedniego.....

JAKIE KROKI PODJĘTO PRZY WYSTĄPIENIU W/W OBJAWÓW?

.....  
.....

JAKIEJ WODY UŻYWANO DO PRZYGOTOWYWANIA MIESZANKI  
MODYFIKOWANEJ?

- WODOCIĄGOWA
- BUTELKOWANA/ NAZWA.....
- INNE / JAKIE.....